Anno XV - Nuova Serie N. 3

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Ricerche sul " Carbone del granoturco „

(*Ustilago Zeae* (Beck) Unger.)

Il Carbone del granoturco, dopo le classiche ricerche di Brefeld [3], è stato studiato specialmente nel Nord America, dove la malattia riveste grande interesse pratico. Dalla ricca bibliografia in proposito, è dato osservare come, su diverse questioni, i risultati sperimentali e le opinioni dei varî autori sono molto discordanti. Questa nota intende in primo luogo portare un contributo intorno ad alcuni argomenti più discussi, e cioè sulla esistenza o meno di un periodo di quiescenza delle clamidospore e sul comportamento delle stesse nel terreno, dall'estate alla primavera.

Il grave attacco di Carbone, verificatosi nella regione dell'Agro Romano nell'annata 1934, di cui ho riferito precedentemente [2], mi ha inoltre fornito l'occasione di studiare l'effetto della disseminazione artificiale delle spore nel terreno, e l'influenza di alcune concimazioni minerali sulle manifestazioni successive della malattia. Queste ultime prove furono in parte condotte nel campo sperimentale della Scuola di Meccanica Agraria di Roma, diretta dal Prof. A. Micheli, che pubblicamente ringrazio.

Le presenti ricerche sono state compiute nelle annate 1934 e 1935. Il materiale di studio, consistente in tumori del Carbone, venne raccolto alla fine di lu-

glio 1934. Le spore, essiccate all'aria, vennero conservate in scatole Petri ed in ambiente asciutto.

Parte sperimentale.

1. — Germinazione delle spore.

Le prime prove di germinazione (in acqua, in soluzione di Cohn, in soluzione di glucosio e su agar carota), vennero compiute con spore levate direttamente dai tumori freschi, mentre quelle successive si eseguirono con spore conservate in scatole Petri, come si è detto.

a) *In acqua.* — Il 31 luglio 1934 posi una piccola ansata di spore in goccie di acqua, ripetendo l'operazione su diversi vetrini che furono messi in camera umida e mantenuti alla temperatura ambiente. L'andamento delle culture fu giornalmente osservato, ma non si ebbe in nessun caso risultato positivo. Dopo 20 giorni dall'inizio delle prove mi valsi di culture in goccia pendente, usando spore conservate. Ma anche da questa serie di prove non si ottenne alcuna germinazione sia conservando a lungo le culture sia ripetendo le semine. Ottenni qualche sporadica germinazione solo nella prima decade di settembre, e la germinazione divenne abbondante e regolare nella seconda metà dello stesso mese. Da una prova eseguita il 20 settembre ottenni, dopo 24-36 ore, una germinazione superiore ed una produzione di sporidi più abbondante nell'acqua comune rispetto all'acqua distillata. Dai saggi compiuti nel 1934 è risultato quindi un periodo di quiescenza delle spore, nei riguardi della germinazione in acqua, che è durato all'incirca 45 giorni. Le percentuali di germinazioni erano alquanto diverse nelle varie prove; in qualche caso superarono l'80%. La rapidità germinativa, la germinabilità assoluta dopo alcuni giorni e la produzione degli

sporidi, sono state sensibilmente inferiori di quanto si è verificato nelle varie soluzioni nutritive. Nell'annata 1935 rinnovai le prove con risultati notevolmente diversi. Prelevando le spore dai primi tumori comparsi alla fine di giugno, ottenni buone germinazioni dopo 24 ore, sia in acqua distillata che in quella di fonte. Dopo 48 ore, sempre alla temperatura ambiente, le percentuali di germinazione superavano l'80% e si notava una buona produzione di sporidi. Contrariamente ai risultati delle prove eseguite l'anno precedente, non ho notato una sensibile differenza tra le culture eseguite in acqua distillata rispetto a quelle in acqua di fonte.

b) *In soluzione di Cohn.* — Le culture in goccia pendente hanno dimostrato che le spore fresche, anche prese da tumori apparentemente immaturi e non ancora lacerati, germinano prontamente in questa soluzione. In ogni caso dopo 24-36 ore la germinazione si inizia e dopo 3 giorni è abbondante ed accompagnata da una notevole produzione di sporidi. Altrettanto si è verificato per le prove eseguite l'anno 1935.

c) *In soluzione di glucosio all'1%.* — Dopo 24 ore la germinazione e la produzione di sporidi, in culture a goccia pendente, è stata in genere abbondante.

d) *Su agar carota.* — Le prove di germinazione su questo mezzo furono eseguite disponendo su di un vetrino copri-oggetto un sottilissimo strato di agar, sul quale vennero seminate le spore prelevate da tumori freschi; il vetrino veniva poi capovolto su un vetro porta oggetti incavato. In gran parte delle culture, dopo 48 ore, la germinazione e la produzione degli sporidi si è riscontrata abbondante e regolare.

e) *In soluzione di glucosio all'1% e di calciocianamide a varie concentrazioni.* — Riscontrata la perfetta idoneità del mezzo costituito dalla soluzione di glucosio, ho eseguito prove di germinazione in presenza di percen-

tuali diverse di calciocianamide, la quale veniva disciolta nell'acqua distillata, agitata e filtrata dopo qualche tempo, per separare i materiali insolubili. In seguito era aggiunto il glucosio. L'andamento delle culture, eseguite sempre in goccia pendente, è riassunto nel seguente prospetto (in cifre arrotondate):

Concentraz. di $CaCN_2$	Dopo 24 ore		Dopo 48 ore	
	Germinazione	Produzione di sporidi	Germinazione	Produzione di sporidi
0,00001	80 %	discreta	80 %	abbondante
0,0001	40 »	discreta	80 »	abbondante
0,001	40 »	discreta	80 »	abbondante
0,005	5 »	—	40 »	discreta
0,01	2 »	—	5 »	scarsissima
Contr. (solo gluc. 1 %)	80 »	abbondante	90 »	abbondantis.

Nelle soluzioni all'1% ed in quelle più concentrate si osservava, dopo alcune ore dalla preparazione della cultura, la deposizione di cristallini, per cui si aveva una modificazione sensibile nella concentrazione del mezzo. Ad ogni modo, oltre la concentrazione dell'1% di calciocianamide, i risultati delle prove sono sempre stati negativi. Dall'osservazione della tabella si può osservare che l'azione della cianamide, salvo nella concentrazione inferiore, ha sensibilmente ritardato nelle prime 24 ore la velocità germinativa e la produzione degli sporidi; dopo 48 ore però le differenze in rapporto al controllo si sono attenuate. L'azione inibente notevolissima permane invece nelle due concentrazioni superiori.

f) In soluzioni di glucosio all'1% e di kainite a varie concentrazioni. — Come nel caso precedente, la kai-

nite venne disciolta nell'acqua distillata e, dopo alcune ore, nel filtrato si aggiunse il glucosio. I risultati delle osservazioni sull'andamento delle culture sono riportate nel seguente prospetto (in cifre arrotondate):

Concentr. di kainite	Dopo 24 ore		Dopo 48 ore	
	Germinazione	Produzione di sporidi	Germinazione	Produzione di sporidi
0,00001	80 %	abbondante	80 %	abbondante
0,0001	80 »	abbondante	80 »	abbondante
0,001	70 »	buona	80 »	abbondante
0,01	60 »	discreta	70 »	abbondante
0,025	40 »	discreta	70 »	discreta
0,05	20 »	scarsissima	50 »	discreta
Contr. (solo gluc. 1 %)	80 »	abbondante	90 »	abbondantis.

È evidente la resistenza notevole delle spore alla kainite, la cui azione diventa dopo 24 ore appena sensibile nella concentrazione all'1%, e non è tale da impedire la germinazione e la produzione di sporidi nemmeno nella proporzione del 5%. Dopo 48 ore, le differenze rispetto al controllo si attenuano.

g) *Soluzione di glucosio all'1% e di acido acetico a varie concentrazioni.* — È noto che la permanenza delle spore dell'*U. Zeae* nei silos, anche per poco tempo, determina in esse la perdita completa della germinabilità, che si ritiene dovuta specialmente all'azione dell'acido acetico, sempre presente nelle masse di foraggio insilato. Ho studiato il comportamento delle spore del Carbone in varie concentrazioni dell'acido; i risultati sono riassunti nel seguente prospetto (in cifre arrotondate):

Concentrazione di acido acetico	Dopo 24 ore		Dopo 48 ore		Dopo 72 ore	
	Germinazione %	Produz. di sporidi	Germinazione %	Produz. di sporidi	Germinazione %	Produz. di sporidi
0,000001	—	—	15	—	40	—
0,00001	5	scarsis.	40	scarsa	60	buona
0,0001	—	—	25	scarsis.	50	discreta
0,001	—	—	30	scarsa	55	buona
0,01	—	—	—	—	—	—
Control. (solo gluc. 1 %)	5	scarsis.	40	discreta	60	buona

La concentrazione dell'1% di acido acetico ha assolutamente impedita la germinazione; le concentrazioni più basse non hanno ridotto, nel complesso, in forte misura la germinabilità e la produzione degli sporidi. Le spore nella concentrazione di 0,00001 si sono per altro comportate come nella soluzione di controllo. L'aspetto delle culture, una settimana dopo l'inizio delle prove, era perfettamente paragonabile a quello dei controlli, salvo il caso della concentrazione all'1% che ha sempre impedita la germinazione.

h) *In terreno sterilizzato e non sterilizzato.* — In alcuni vasi di terracotta riempiti per due terzi di terreno, previamente passato allo staccio per separare la parte più grossolana, ho disposto superficialmente un sottile strato di spore di *U. Zeae*, ricoperte in seguito da un poco di terra fine. Alcuni vasi furono periodicamente irrorati con acqua, ed altri con soluzione di Cohn o di glucosio all'1%. L'esame microscopico del materiale prelevato a brevi intervalli di tempo, dalla fine di agosto a tutto novembre 1934, non ha in nessun caso permesso di accertare la presenza di spore germinanti o di sporidi, mentre era chiaramente evidente e sollecita la germinazione di altre spore contenute nel terreno, le quali

producevano micelio che si estendeva specialmente sui margini dei vasi impiegati per l'esperienza. In seguito all'esito negativo di queste prove, ho saggiato la germinabilità delle spore del Carbone in soluzioni estratte dal terreno, nell'intento di osservare se alla particolare costituzione di queste fosse dovuta la mancata germinazione.

Cinquanta grammi dello stesso terreno precedentemente impiegato, vennero a lungo agitati in un cilindro con 250 cc. di acqua distillata, e dopo 20 ore si prelevò mediante una pipetta una parte del liquido limpido sovrastante. Le prove di germinazione hanno dato i seguenti risultati (in cifre arrotondate):

Liquidi sperimentati	Dopo 24 ore		Dopo 48 ore		Dopo 72 ore	
	Germinazione %	Produz. di sporidi	Germinazione %	Preduz. di sporidi	Germinazione %	Produz. di sporidi
Acqua distillata. .	40	scarsis.	40	scarsa	50	discreta
Soluzione di glucosio all'1 %. . .	60	discreta	60	discreta	70	buona
Estratto di terreno	70	buona	70	buona	70	ottima
Estr. di terreno e glucosio all'1 %.	90	ottima	90	ottima	90	enorme

L'energica azione stimolante sulla rapidità germinativa e sulla produzione degli sporidi è evidentissima, sia nel caso dell'estratto di terreno rispetto all'acqua distillata, che in quello dell'estratto di terreno e glucosio nei riguardi della semplice soluzione di glucosio. La mancata germinazione nel terreno deve quindi mettersi in relazione a qualche altro fattore, e specialmente alla concorrenza di altri microrganismi presenti nel terreno stesso. Nell'intento di indagare su questo punto, ho seguito il comportamento delle spore in terreno sterilizzato. Nel mese di novembre 1934 in alcune scatole Petri ho disposto il terreno privato dalla parte grossolana, per una

altezza di un paio di centimetri, ed ho poi mantenuto le diverse scatole in stufa a 110° per un'ora. In seguito ho disposto sul terreno un leggero strato di spore che furono irrorate con acqua sterile o con soluzione di glucosio all'1%. Le scatole furono messe in termostato a 25-27°. Per confronto, si prepararono nello stesso modo altre scatole con terreno non sterilizzato. Dopo 3 giorni l'esame microscopico del materiale prelevato da terreno sterilizzato ha permesso di accertare qualche rarissima germinazione, sia nelle scatole in cui si versò acqua che in quelle in cui si aggiunse la soluzione di glucosio. Occorrevano però molti prelievi per trovare qualche spora germinante. Si è pure riscontrata la presenza di qualche sporidio. In seguito, tanto la germinazione che la produzione degli sporidi si è però completamente arrestata, mentre si osservava la prevalenza di altri microrganismi. Questi indubbiamente si erano portati nel terreno unitamente alle spore, il cui episporio rugoso può facilmente ospitarli. Un fenomeno analogo non si verificava invece ponendo le spore a germinare in culture a goccia pendente, anche se non sterilizzavo la soluzione di glucosio, od un altro mezzo impiegato. Se osservai inquinamenti da parte di altri funghi o di saccaromiceti, in genere lo sviluppo della cultura procedeva regolarmente e la produzione degli sporidi si continuava a lungo, spesso fino a colmare la goccia della soluzione nutritiva.

È quindi unicamente nel terreno che lo sviluppo dei microrganismi concorrenti diviene assolutamente preponderante. Le prove ripetute nella primavera 1935 hanno dato gli stessi risultati.

i) In soluzione di glucosio, dopo la permanenza delle spore nel terreno in presenza di calciocianamide. — Ai primi di agosto 1934, riempii due vasi di terracotta con terreno setacciato, e vi disposi superficialmente uno straterello di spore che spolverai direttamente con calciocianamide. Un vaso venne mantenuto all'asciutto, e l'altro si irrorò periodicamente con acqua comune. In

altri due vasi riempiti con la stessa terra, disposi pure superficialmente delle spore del Carbone, che vennero ricoperte con terra mescolata ad un egual volume di spore. Come nel caso precedente, un vaso si mantenne asciutto e l'altro fu costantemente annaffiato. Eseguii dopo vario tempo prove di germinazione in culture a goccia pendente, in soluzione di glucosio all'1%. Le spore rimaste direttamente a contatto col concime, nei vasi asciutti, non mostrarono in nessun caso di germinare, nei saggi dopo 4 e 18 giorni dall'inizio dell'esperienza. Altrettanto, del resto, si è sempre ottenuto ponendo in una scatola Petri delle spore mescolate a calciocianamide. Qualche risultato positivo si è invece ottenuto nel caso delle spore tratte dai vasi annaffiati. Ciò fa pensare che le spore non vengano gravemente danneggiate per la azione diretta del concime, e che i risultati nel complesso negativi delle prove di germinazione si debbano al fatto che, preparando le culture, non si potevano escludere particelle di calciocianamide. Esse, disciogliendosi nella soluzione di glucosio, potevano facilmente superare la concentrazione dell'1%, la quale come si è già detto inibisce la germinazione. D'altra parte le spore che vennero ricoperte di calciocianamide mescolata previamente con terra, hanno dato una germinazione ed una produzione di sporidi di poco inferiore al controllo, nei saggi eseguiti dopo 18 giorni, e sia quelle lasciate all'asciutto che quelle periodicamente annaffiate.

l) In soluzione di glucosio, dopo l'azione dei raggi ultravioletti. — In queste prove di germinazione le spore furono dapprima sospese in una goccia di acqua distillata, posta su di un vetrino porta oggetti. I vetrini si collocarono a 20 cm. di distanza da una lampada di quarzo a vapori di mercurio della Casa Gallois di Lione, funzionante a corrente alternata, a 110 volts e 5 ampère. L'innalzamento di temperatura derivante dall'irradiazione, fu trovato essere quasi trascurabile. Anche nel caso della esposizione più breve, e cioè di un quarto di

ora, si osservava la evaporazione completa della goccia sospendente le spore; queste venivano poi fatte germinare in una goccia di soluzione di glucosio all'1%. Accertato in un saggio preliminare che una esposizione inferiore ai 15 minuti non aveva alcun effetto, ho eseguito le prove successive aumentando la durata dell'esposizione di quarto d'ora in quarto d'ora fino ad un massimo di due ore. L'andamento delle germinazioni, nelle varie culture poste in termostato a 26-27°, fu osservato dopo 1, 2 e 3 giorni. Dopo 24 ore il numero delle germinazioni non è stato molto differente nei riguardi delle spore irradiate; e precisamente oscillava dal 30 al 40% in tutti i casi sperimentati, mentre nelle culture di controllo era del 60%. La produzione degli sporidi era notevole e praticamente eguale al controllo, fino alla durata di esposizione di un'ora; oltre questo tempo si presentava sensibilmente più scarsa. Dopo 2 giorni, le differenze rispetto al controllo si erano molto attenuate nel complesso e, nel caso delle esposizioni più brevi, la produzione degli sporidi è stata per altro superiore al controllo stesso. Dopo 3 giorni il numero delle spore germinate era all'incirca eguale a quello osservato nei controlli, in tutti i casi. La produzione degli sporidi si presentava sempre superiore al controllo fino all'esposizione di un'ora, notevolmente più scarsa nel caso delle esposizioni più lunghe.

L'effetto dei raggi ultravioletti sulle spore dell'*U. Zeae* si è quindi manifestato con una diminuzione della rapidità germinativa solo nelle prime 24-48 ore, e non è più avvertibile in seguito. Sulla produzione degli sporidi l'irradiamento ha avuto invece nelle esposizioni più brevi un effetto positivo. Le spore del Carbone del mais sono quindi assai resistenti ai raggi ultravioletti, e questo si spiega del resto facilmente data la particolare struttura della spora stessa. Non era privo di interesse quindi osservare quale azione avessero le radiazioni ultraviolette sopra a spore che avevano iniziata la ger-

minazione. Dopo alcuni tentativi mi riuscì di preparare una cultura in cui tutte le spore avevano iniziato l'emissione del probasidio per una lunghezza inferiore al diametro della spora stessa. Dopo l'irradiazione di mezz'ora, le spore furono messe in soluzione di glucosio ed in cultura a goccia pendente. Dopo 24 ore, l'emissione del probasidio e la formazione degli sporidi era completa; morfologicamente però si notavano differenze particolari in confronto al tipo normale, e cioè il probasidio appariva più corto e tozzo e gli sporidi invece di essere più o meno cilindrici erano nettamente ovoidei. Ho intenzione di occuparmi più dettagliatamente in seguito di questo interessante fenomeno.

2. — **Comportamento delle clamidospore disposte a diverse profondità nel terreno, nel periodo dall'estate 1934 alla primavera 1935.**

Ai primi di agosto 1934, riempii 18 vasi di terracotta delle stesse dimensioni con terreno più fertile del campo sperimentale di questa Stazione. La terra era stata finemente setacciata. I vasi furono divisi in tre gruppi: nel 1.° le spore si disposero superficialmente, nel 2.° a media profondità (6 cm.), e nel 3.° più profondamente (12 cm. circa). Di ogni gruppo, metà dei vasi fu ricoperta con lastre di vetro. Infine i vasi di ciascuna terna, sia coperti che scoperti, furono posti nelle seguenti condizioni: uno, periodicamente annaffiato, fu lasciato all'esterno ed esposto all'azione del sole; un secondo pure bagnato di frequente, venne lasciato all'ombra nell'interno di un laboratorio, ed il terzo, pure disposto all'ombra e nell'interno, fu conservato asciutto.

Dai primi di settembre alla primavera, si misurò periodicamente la temperatura del terreno alle diverse profondità alle quali si erano disposte le spore; tali rilevi furono eseguiti alle ore 11 del mattino.

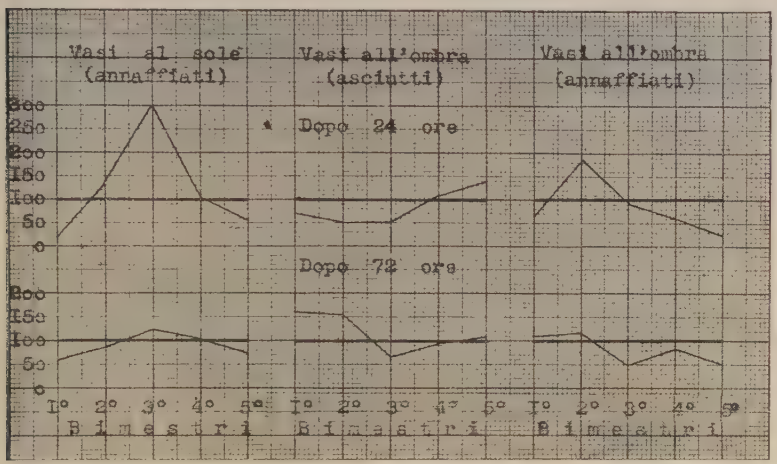
A regolari intervalli di un mese circa, prelevai un'an-

sata di spore dai diversi vasi e preparai delle culture a goccia pendente, in soluzione di glucosio all'1%. L'andamento delle culture fu osservato dopo 24 e 72 ore, nei riguardi della germinabilità percentuale e della produzione di sporidi. Nella preparazione delle culture ho cercato il più possibile di escludere le particelle di terreno che avrebbero ostacolato il computo della germinazione. I dati ottenuti si intendono arrotondati poichè non era sempre agevole osservare in tutte le spore l'emissione del probasidio, risultando non di rado aggruppamenti di spore o masse notevoli di sporidi. Le prove furono sempre eseguite in doppio, anche per i controlli ottenuti con spore conservate in scatole Petri alla temperatura ambiente. I dati ottenuti dalle medie mensili servirono al calcolo, in ogni caso, delle medie bimestrali; ciò per rendere meno sensibili eventuali errori di osservazione. Per quanto riguarda la produzione degli sporidi ho ritenuto di poterla meglio valutare ponendo, in ogni caso =100 la produzione più abbondante, quando cioè la massa degli sporidi riempiva in gran parte il volume della goccia. Affinchè il dato sulla produzione degli sporidi risultasse più attendibile, il numero delle spore poste a germinare è stato il più possibile uniforme. In ogni caso il coefficiente che esprime la produzione degli sporidi, risulta sempre dalla media di numerose osservazioni. Per brevità, nei grafici che seguiranno, ho indicato i varî bimestri studiati nel modo seguente:

1.° Bimestre: Agosto-Settembre;
2.° » : Ottobre-Novembre;
3.° » : Dicembre-Gennaio;
4.° » : Febbraio-Marzo;
5.° » : Aprile-Maggio.

Le condizioni sperimentali realizzate in questa ricerca, mi hanno permesso di studiare l'influenza della copertura dei vasi, dell'umidità del terreno, della disposizione più o meno profonda delle spore e l'azione dei raggi solari.

a) *Influenza della copertura del terreno.* — Ho studiato l'effetto della copertura dei vasi senza distinguere il comportamento delle spore superficiali da quelle più o meno profonde, dato che la media complessiva esprimeva nell'insieme l'effetto dei singoli casi esaminati. Nel grafico n. 1 che riporta l'andamento della germinazione dei varî bimestri, la germinabilità percentuale delle spore tratte dai vasi scoperti si è fatta =100.



Germinazione °/₀ delle spore tratte dai vasi scoperti = 100.
Germinazione delle spore tratte dai vasi coperti.

Grafico N. 1. — *Effetti della copertura del terreno.*
Germinazione °/₀ delle spore disposte superficialmente, a 6 ed a 12 cm. di profondità (media complessiva).

Le differenze algebriche nella temperatura media bimestrale nei vasi coperti rispetto a quelli scoperti, sono state le seguenti:

	Bimestri:				
	1.°	2.°	3.°	4.°	5.°
Vasi al sole, annaffiati . .	+3.6	+1.9	+4.2	+3.0	+6.1
» all'ombra, annaffiati .	—	—	—0.3	—0.4	—0.5
» all'ombra, asciutti .	—0.2	—	—0.1	—0.3	—0.4

La produzione degli sporidi (produzione massima =100, media di 5 bimestri) è stata la seguente:

Tempo della osservazione	Vasi al sole annaffiati		Vasi all'ombra annaffiati		Vasi all'ombra asciutti	
	Coperti	Scoperti	Coperti	Scoperti	Coperti	Scoperti
Dopo 24 ore . . .	37	40	28	30	24	20
Dopo 72 ore . . .	75	78	62	64	58	53

Come si osserva dal grafico n. 1, le spore tratte dai vasi coperti ed al sole, hanno dimostrato una rapidità germinativa inferiore nei mesi caldi, (agosto-settembre ed aprile-maggio), e pure una germinabilità inferiore nel complesso dopo 3 giorni. Nei mesi caldi, la copertura dei vasi determina un ulteriore aumento nella temperatura già elevata dei vasi al sole, e ciò può ritenersi la causa prima che ha depresso la vitalità delle spore.

La rapidità germinativa delle spore tratte dai vasi all'ombra, costantemente inumiditi, è stata superiore nel caso dei vasi coperti, unicamente nel 2.° bimestre, e la germinabilità dopo 3 giorni solo nei primi due bimestri considerati. In questo caso le minime differenze riscontrate nelle temperature, mettono bene in evidenza l'esistenza di un altro fattore.

Le spore tratte dai vasi coperti, mantenuti asciutti ed all'ombra hanno dimostrato una velocità germinativa superiore solo nel bimestre aprile-maggio, mentre la germinabilità dopo 3 giorni è stata nel complesso aumentata dalla copertura del terreno.

La circolazione meno attiva dell'aria che si verifica nei vasi coperti, e la sensibile accumulazione di anidride carbonica, deprimono quindi la vitalità delle spore, nel terreno che venne periodicamente annaffiato. Nel terreno asciutto, invece, la copertura determina un leggero aumento nella germinabilità al termine del periodo studiato. Per quanto riguarda la produzione degli spo-

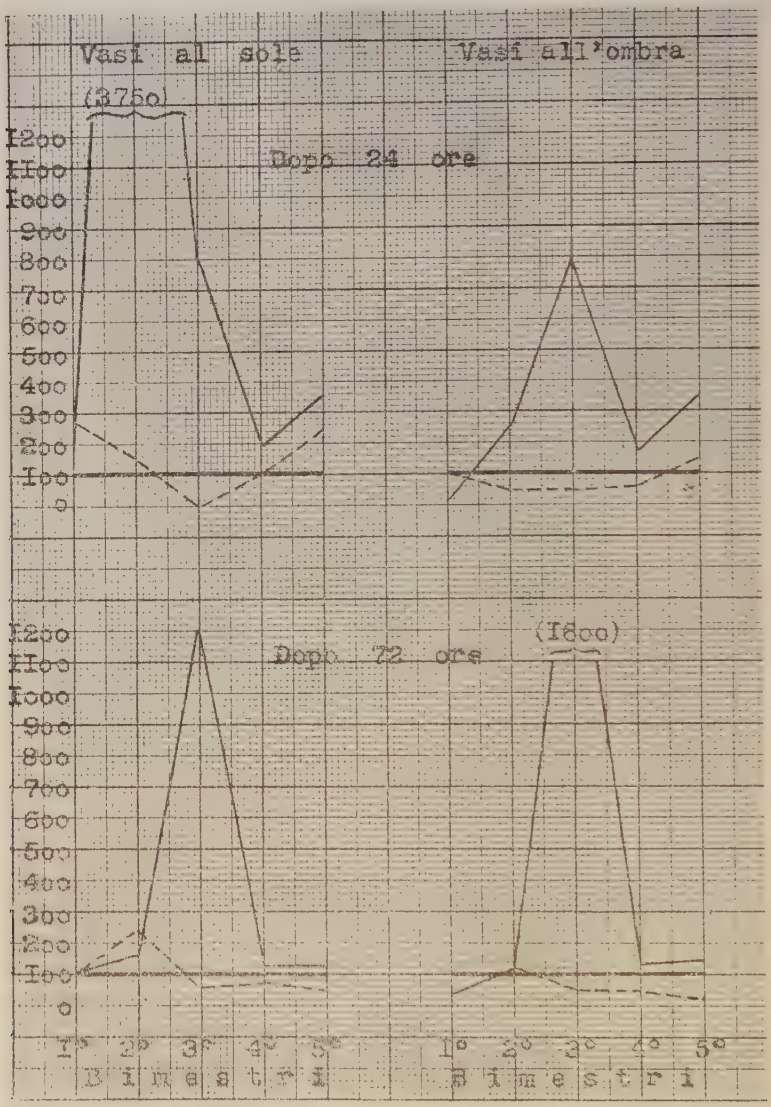
ridi, è evidente — dalla osservazione della precedente tabella — che la copertura del terreno ha avuto una azione leggermente negativa nel caso dei vasi annaffiati, alquanto positiva invece nel caso di quelli asciutti; ciò conferma quanto si è verificato per le clamidospore.

b) Effetto dell'umidità del terreno. — L'influenza dell'umidità del terreno sul comportamento delle clamidospore è stato rilevante; difatti, nei vasi periodicamente annaffiati, dal mese di febbraio in avanti, si è riscontrata nelle spore, disposte a 6 ed a 12 centimetri, una percentuale crescente di esse che apparivano screpolate, sgonfie e che avevano perduto affatto la facoltà germinativa. Il fenomeno invece ha mancato di verificarsi nelle spore superficiali ed in tutte quelle variamente disposte, provenienti dai vasi asciutti. Nella seguente tabella sono riportate le percentuali delle spore che si riscontrarono alterate e provenienti dai vasi esposti al sole o mantenuti all'ombra. Ho considerato solo i vasi scoperti che più si avvicinano alle condizioni naturali. Il fenomeno, come si è detto, si è manifestato solo dal mese di febbraio e si è seguito fino a giugno.

		Feb.	Mar.	Apr.	Mag.	Giug.
Vasi al sole :	Spore a 6 e 12 cm. (media)	51 %	62 %	73 %	80 %	88 %
» all'ombra :	» » 6 » 12 » »	64 %	65 %	83 %	87 %	91 %

Come si vede, la percentuale delle spore che hanno perduta la vitalità, è stata leggermente inferiore nei vasi esposti all'azione del sole, restando però sempre rilevantissima.

Dal grafico seguente, che riporta la germinabilità delle spore dei vasi annaffiati, rispetto a quella delle spore dei vasi asciutti fatta = a 100, si potrà osservare che la rapidità germinativa delle spore superficiali, mantenute nei vasi annaffiati, è stata notevolmente superiore ed ha avuto un forte massimo nel bimestre ottobre-novembre, nel caso dei vasi al sole, ed in quello dicembre-gennaio



——— Germinazione °/₀ delle spore tratte dai vasi asciutti = 100.
——— Germinazione delle spore superficiali.
– – – – Germinazione delle spore più o meno profonde (media).

Grafico N. 2. — *Influenza dell' umidità del terreno.*

per quelli mantenuti all'ombra. Le spore interrate hanno dimostrato una rapidità germinativa inferiore solo nel bimestre dicembre- gennaio, trattandosi dei vasi al sole, mentre essa è stata quasi sempre inferiore nel caso dei vasi all'ombra.

Dopo 3 giorni, la germinabilità delle spore superficiali ha avuto un massimo nel bimestre dicembre-gennaio dimostrando nel complesso una minore differenza rispetto alle spore dei vasi asciutti. La germinabilità delle spore interrate è stata nettamente inferiore, nel periodo da dicembre a maggio, nei confronti di quelle mantenute nei vasi asciutti.

Se nel considerare questi risultati si tien conto della percentuale di spore uccise per l'umidità del terreno, sarà evidente che le spore sopravissute hanno dimostrato una vitalità relativamente superiore a quelle tratte dai vasi asciutti, apparentemente affatto danneggiate, Anche la produzione degli sporidi conferma questo risultato: difatti, la media esprimente la produzione degli sporidi, da agosto a gennaio, e cioè prima che si iniziasse le degenerazione delle spore nei vasi annaffiati, e quella del periodo successivo febbraio-maggio, sono state le seguenti (Produzione massima = a 100):

	Dopo 24 ore		Dopo 72 ore	
	agos.-genn.	febb.-mag.	agos.-genn.	febb.-mag.
Vasi al sole annaffiati:				
Spore superficiali	44	75	71	91
Spore ± profonde	14	61	68	90
Vasi all'ombra annaffiati:				
Spore superficiali	16	75	66	91
Spore ± profonde	14	45	41	78
Vasi all'ombra asciutti:				
Spore superficiali	11	33	43	66
Spore ± profonde	16	20	50	61

La produzione degli sporidi da parte delle spore più o meno profonde e provenienti dai vasi annaffiati, è stata quasi sempre superiore a quella corrispondente ottenuta dalle spore dei vasi asciutti, anche nel periodo da febbraio a maggio. La maggiore vitalità delle spore superficiali è evidente anche dalla più abbondante produzione di sporoidi.

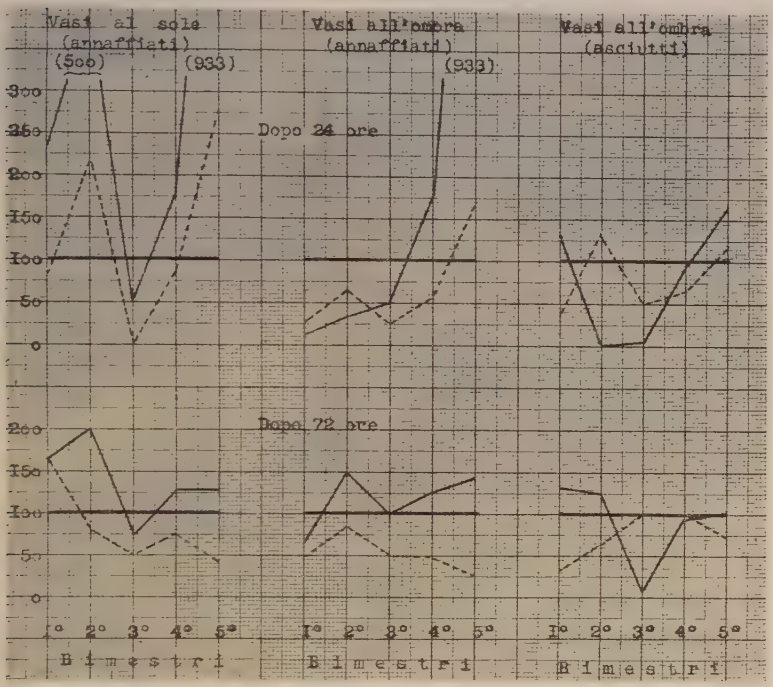
In conclusione, l'umidità del terreno ha distrutto la vitalità di buona parte delle spore più o meno profondamente situate, ma non ha impedito una ottima germinazione ed una copiosa produzione di sporidi da parte di quelle rimaste viventi. Tuttavia non è privo di importanza, agli effetti della diffusione della malattia, constatare che una grande percentuale di spore rimangono uccise per l'umidità del terreno, in misura crescente, prima dell'inizio della primavera.

c) *Effetti della disposizione superficiale e più o meno profonda delle spore nel terreno.* — Nel compendiare i risultati ottenuti a questo proposito, mi sono riferito alle percentuali di germinazione ed alla produzione di sporidi nei riguardi delle spore disposte alla superficie del terreno ed alle due diverse profondità studiate, nei vasi scoperti. Non ho distinto il caso delle spore disposte a 6 cm. da quelle più profonde poichè quest'ultime, trovandosi adagiate su un piccolo spessore di terreno, dal fondo dei vasi, riuscivano meno isolate dall'ambiente esterno di quelle poste a media profondità, dato il foro esistente al fondo dei vasi stessi. Per questa ragione, come nei casi precedenti, i dati esposti risultano dalle medie di quelli riferentesi alle spore disposte a 6 ed a 12 cm.

Nel grafico seguente le percentuali di germinazione dopo 24 e 72 ore, sono state riferite a quelle delle spore di controllo fatte = a 100.

È evidente, nel caso dei vasi al sole, la maggior vitalità delle spore superficiali rispetto ai controlli ed

alle spore interrate, specialmente nei bimestri ottobre-novembre ed aprile-maggio. L'esame della germinazione dopo 3 giorni dimostra un andamento analogo.



Germinazione % delle spore di controllo = 100.
Germinazione delle spore superficiali.
Germinazione delle spore più profonde (media).

Grafico N. 3. — *Effetti della disposizione più o meno profonda delle spore nel terreno.*

Le spore superficiali tratte dai vasi annaffiati, ma tenuti all'ombra, hanno dimostrato una rapidità germinativa superiore, salvo i primi due bimestri. Dopo 3 giorni invece, dalle spore superficialmente disposte, si sono ottenute percentuali di germinazione sempre maggiori di quelle delle spore interrate, e quasi sempre più elevate anche dei controlli.

Le spore superficiali provenienti dai vasi asciutti e mantenuti all'ombra, hanno dato nei mesi più freddi percentuali di germinazione più basse rispetto alle spore interrate, maggiori negli altri mesi. Nell'esame dopo 3 giorni, dalle spore superficiali si sono ottenute germinazioni numericamente eguali e non decisamente superiori rispetto al controllo, come si era verificato negli altri casi, nel bimestre aprile-maggio.

Queste osservazioni permettono di asserire che la vitalità delle spore superficiali, specialmente quelle dei vasi al sole che più si avvicinano alle condizioni naturali, si mantiene superiore a quella delle spore di controllo, mentre la facoltà germinativa delle spore più o meno interrate è riuscita fortemente ridotta.

La produzione media degli sporidi, nei 5 bimestri considerati, è stata la seguente (produzione massima =100) :

	Dopo 24 ore	Dopo 72 ore
Vasi al sole annaffiati:		
Spore superficiali . . .	59	81
Spore ± profonde . . .	37	79
Vasi all'ombra annaffiati:		
Spore superficiali . . .	45	78
Spore ± profonde . . .	29	58
Vasi all'ombra asciutti:		
Spore superficiali . . .	22	54
Spore ± profonde . . .	18	55
Controllo	53	66

La produzione degli sporidi è stata quindi in genere superiore nel caso delle spore disposte superficialmente, e massima in quelle tratte dai vasi al sole, in cui la produzione stessa è stata superiore al controllo. La produzione degli sporidi è stata più scarsa per le spore interrate, specialmente per quelle mantenute nei vasi asciutti ed all'ombra. Le stesse considerazioni fatte per le cla-

midospore valgono quindi anche per la produzione degli sporidi.

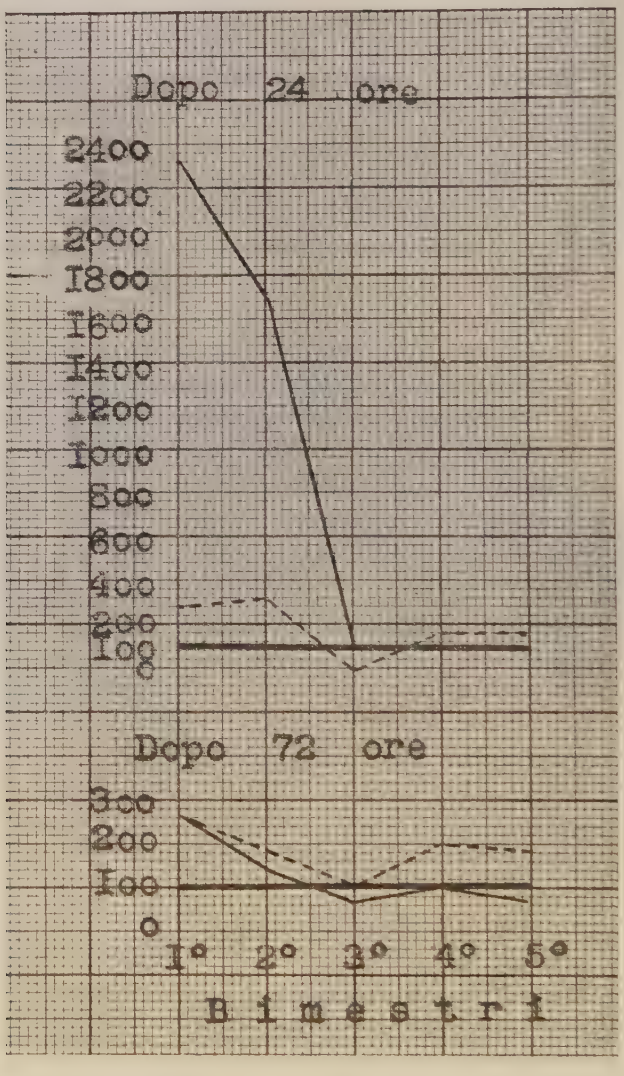
Le differenze di temperatura, modeste nel complesso, osservate a livello delle spore superficiali, rispetto a quelle più o meno profonde, non possono aver esplicato un'azione notevole sui risultati ottenuti, i quali debbono quindi dipendere dalle condizioni ambientali in cui vengono a trovarsi le spore collocate a diversa profondità nel terreno.

d) Effetti dei raggi solari. — I dati ottenuti dalle spore tratte dai vasi annaffiati, mantenuti all'ombra od esposti all'azione del sole, sono riportati nel grafico seguente in cui ho fatto = a 100 le percentuali di germinazione relative alle spore dei vasi mantenuti all'ombra.

L'osservazione del grafico permette di rilevare una azione nettamente positiva dei raggi solari nei primi due bimestri, specialmente sulle spore superficiali, nel caso della osservazione dopo 24 ore. Nei bimestri successivi il sole non ha avuto alcuna azione sulle spore superficiali: mentre ha agito positivamente, nel periodo da febbraio a maggio, sulle spore interrate. L'esame della germinabilità dopo 3 giorni dimostra l'azione nettamente positiva del sole sulle spore interrate. Sulle spore superficiali l'azione del sole è stata positiva solo nei primi due bimestri, indifferente o negativa in seguito.

Le differenze positive nelle temperature osservate a livello delle spore superficiali ed interrate, nei vasi al sole rispetto a quelli mantenuti all'ombra, sono date dalla seguente tabella in gradi:

	Bimestri:				
	1.°	2.°	3.°	4.°	5.°
Spore superficiali . . .	13.2	2.5	0.5	3.5	7.3
Spore ± profonde . . .	7.8	2.0	0.1	3.0	7.7



——— Germinazione °|₀ delle spore tratte dai vasi mantenuti all'ombra = 100.
·-·- Germinazione delle spore superficiali.
– – – – Germinazione delle spore più profonde (media).

Grafico N. 4. — *Effetti del sole.*

Le differenze nelle temperature a livello delle spore superficiali e interrate, nei vasi al sole rispetto a quelli all'ombra, sono state all'incirca eguali nei varî bimestri, salvo nel caso delle spore superficiali nei mesi di agosto e settembre. Il diverso comportamento delle spore messo in evidenza dal diagramma, potrebbe specialmente spiegarsi con le differenze di temperatura nel caso delle spore interrate, mentre per quelle superficiali — che si sono avvantaggiate dell'azione del sole unicamente nei primi due bimestri — devono essere in gioco altri fattori.

La produzione degli sporidi, come appare dalla tabella a pag. 408, è stava notevolmente più abbondante nel caso delle spore provenienti dai vasi esposti al sole.

3. — Comportamento di piante di mais seminate in pieno campo, in terreno artificialmente infettato con spore nell'anno precedente alla coltivazione.

Per studiare l'effetto della quantità di clamidospore presenti nel terreno, sulle manifestazioni successive della malattia, una parcella venne cosparsa superficialmente, nel mese di settembre 1934, con una forte quantità di clamidospore ottenute da tumori previamente essiccati all'aria. Nel mese di marzo successivo, si eseguì una leggera lavorazione ed un altro lavoro più profondo si praticò alla fine di aprile, per disporre il terreno alla semina e per interrare i concimi. La concimazione di impianto fu praticata con q. 10 di perfosfato minerale, q. 2 di solfato di potassio e q. 3 di solfato ammonico per ettaro; in copertura, all'epoca della rincalzatura, q. 3 di nitrato di calcio per ettaro. L'irrigazione fu compiuta a pioggia le prime due volte e per imbibizione dopo la rincalzatura (due volte all'epoca dei rilievi di cui verrà riferito). La varietà impiegata per la semina è

stata il Saverio. La parcella artificialmente infettata con spore comprendeva 4 file di 250 piante ciascuna, mentre

Fig. 1. — Tipico aspetto dell'infezione nella parcella artificialmente infettata con spore. Tre piante adiacenti colpite. (I tumori sono evidenti al centro dei cerchi segnati sulla fotografia).

la parcella testimonio era notevolmente più vasta. Per impedire che lo sviluppo della malattia nella parcella infettata influisse su quella di controllo, questa era situata a più di 100 metri di distanza dalla prima, ed in direzione contraria al vento dominante.

Dopo 50 giorni dalla semina compiuta alla fine di aprile, si manifestarono le prime infezioni, unicamente

però nella parcella artificialmente infettata. L'infezione non si presentava uniformemente distribuita, ma bensì risultavano più spesso attaccate 2-4 piante adiacenti, che erano intervallate da un buon numero di piante immuni. Nella fig. 1 è riportato il tipico aspetto dell'infezione.

Le percentuali di piante colpite nelle diverse parti, sono state le seguenti:

Fusti	1 %
Infiorescenze maschili	7 »
Foglie	2 »
Infiorescenze maschili e fusti.	2 »
Foglie e fusti.	5 »
Fusti, foglie ed infiorescenze maschili	1 »
Totale	18 %

La infezione predominante si è quindi verificata sulle infiorescenze maschili. Nella parcella di controllo, 65 giorni dopo la semina si verificò solo all'1 per mille di piante colpite, con una proporzione quindi trascurabile di fronte alla saliente manifestazione della malattia nella parcella infettata. È da ciò evidente l'influenza della quantità di spore presenti nel terreno.

4. — Comportamento di piante di mais in ambiente isolato in terreno artificialmente infettato con spore.

Questa esperienza venne condotta per accertare l'influenza della disseminazione superficiale di clamidospore nel terreno sulle manifestazioni della malattia, allevando le piante in ambiente isolato, in modo da rendere impossibile alle spore stesse di giungere sulla parte aerea delle piante ed agli sporidi eventualmente presenti nell'aria di determinare l'infezione.

A questo scopo una piccola serra a vetri, alta m. 3,10 e della superficie di metri quadrati 2 circa, chiudibile ermeticamente, venne riempita per un'altezza di m. 1,50 con terreno di buona fertilità. Ai primi di maggio disposi superficialmente uno strato di clamidospore raccolte nell'annata precedente e seminai il granoturco della varietà Piacentino, alla profondità di 2 cm. circa. Subito dopo disposi sul terreno uno strato di un paio di cm. di sabbia silicea finissima, previamente sterilizzata. Alcuni giorni dopo, quando le piantine emersero dalla sabbia, adagiai sulla stessa uno strato di cotone sterilizzato per impedire in modo assoluto alle spore disposte sul terreno di comunicare con l'ambiente della serra. L'aria interna venne giornalmente rinnovata con una pompa a motore che faceva gorgogliare dapprima l'aria attraverso una soluzione concentrata di acido solforico.

Vicino alla serra, in pieno campo, venne contemporaneamente seminata una piccola parcella con la stessa varietà di granoturco, che venne frequentemente annaffiato. Il terreno contenuto nella serra veniva invece irrorato dall'esterno mediante tubi di gomma precedentemente disposti. Fin dai primi giorni la temperatura nell'interno della serra era notevolmente elevata e, per ovviare in parte a questo inconveniente, disposi delle stuoie che attenuavano l'effetto del sole.

Le piantine cresciute nella serra avevano fin dall'inizio del loro sviluppo tendenza a « filare », mentre quelle allevate all'esterno crebbero perfettamente normali.

Le piante vennero giornalmente osservate. Non si verificò alcuna manifestazione di Carbone in quelle cresciute nella serra, mentre quelle allevate nella parcella di controllo si mostrarono attaccate, a fine agosto, nella proporzione del 5%. La presenza di un forte numero di clamidospore nel terreno, non può quindi determinare alcuna infezione se si impedisce alle stesse di giungere sulla parte aerea della pianta.

5. — **Andamento dell'infezione naturale di Carbone in piante di mais riccamente concimate alla semina con calciocianamide o con kainite.**

Come si è visto nella prima parte di questa ricerca, la concentrazione di calciocianamide o di kainite capace di impedire la germinazione delle spore del Carbone è relativamente elevata e non certo raggiungibile nel terreno con le quantità normalmente usate di questi concimi. Tuttavia non ho creduto inutile condurre alcune prove in pieno campo, somministrando alle piante una elevata quantità di calciocianamide o di kainite, per studiare se ciò avesse eventualmente influito sull'andamento dell'infezione naturale di Carbone, per cui si presentasse l'opportunità di preferire taluni concimi agli altri.

Su di un appezzamento di terreno coltivato per varî anni ad erba medica, ricavai quattro parcelle larghe m. 3 e lunghe m. 114. Queste parcelle furono trattate nello stesso modo per quanto riguarda la lavorazione del terreno, l'epoca della semina, l'irrigazione ecc. L'unica variante consisteva nella qualità dei concimi usati, che sono stati i seguenti (per ettaro di terreno):

Parcella n. 1. — Calciocianamide q. 8; solfato potassico q. 2; perfosfato minerale q. 10.

Parcella n. 2. — (Testimonio della precedente). Alla calciocianamide vennero sostituiti q. 6 di solfato ammonico.

Parcella n. 3. — Kainite q. 8; solfato ammonico q. 3; perfosfato minerale q. 10.

Parcella n. 4. — (Testimonio della precedente). Alla kainite vennero sostituiti q. 2 di solfato potassico.

La semina venne effettuata alla fine di aprile con mais della varietà Saverio. Le prime due irrigazioni si praticarono a pioggia e, dopo la ricalzatura, per imbibi-

zione. In tutte le parcelle, all'epoca della rincalzatura, si sparsero q. 3 per ettaro di nitrato di calcio.

Le prime infezioni si sono verificate contemporaneamente nelle varie parcelle, 60 giorni circa dopo la semina. Il numero delle piante attaccate, a tutto luglio, è stato del 2-3% in ogni caso. Per quanto l'esperienza si sia compiuta in una annata in cui la malattia è stata nel complesso lieve, si può ritenere che la somministrazione di calciocianamide o di kainite non abbia una sensibile influenza sull'andamento dell'infezione naturale.

Discussione e conclusioni.

Uno dei primi risultati della presente ricerca riguarda l'andamento della germinazione delle spore fresche nell'acqua. I risultati ottenuti in proposito dai varî autori sono molto discordanti: così Laverdo [9] non osservò la germinazione delle clamidospore se non dopo il periodo di riposo di un anno; Brefeld [3] non ottenne affatto o assai difficilmente la germinazione nell'acqua, e così pure Maire [11]. La germinazione era incerta e difficile secondo le osservazioni di Clinton [4] e di Stakman [14]. D'altra parte Hitchcock e Norton [5], Piemeisel [13], Jones [7], Novopokrovsky e Skaskin [12], Leszczenko [10], Benigni [1] ed Uetting [15], trovano che le clamidospore germinano sempre, più o meno bene nell'acqua, per cui escludono l'esistenza di un periodo di quiescenza. Si deve però osservare che non sempre gli autori indicano con precisione l'età delle spore dopo la formazione dei tumori.

Nelle mie ricerche, le spore fresche si svilupparono prontamente nelle soluzioni nutritive, ma iniziarono la germinazione nell'acqua solo dopo un periodo di riposo di 45 giorni circa, nell'annata 1934; germinarono invece prontamente nelle prove eseguite nel 1935. Il comportamento delle spore a questo riguardo non appare

quindi definito e costante, ma risente invece dell'effetto di particolari fattori che hanno probabilmente influito sulle discordanze nei risultati esposti. Secondo le mie ricerche la germinazione in acqua di fonte rispetto a quelle in acqua distillata sono state più sollecite ed abbondanti, nelle prove eseguite l'anno 1934, come ottenne pure Lesczenko [10]. Nelle prove eseguite l'anno successivo non si è avuta invece una sensibile differenza. Nelle soluzioni nutritive, concordemente ai risultati ottenuti da altri autori, la germinazione è sempre stata più sollecita e numerosa.

La germinazione nelle soluzioni di acido acetico è avvenuta solo nelle concentrazioni inferiori all'1%, come ottenne pure Piemeisel [13]; ciò conferma le opinioni di questo autore nei riguardi degli effetti dell'insilamento che distrugge la vitalità delle spore.

Le spore dell'*U. Zeae* sono resistentissime all'azione dei raggi ultravioletti; ne risentono però se vengono irradiate dopo che hanno iniziata la germinazione, ma solo sulla forma del probasidio e degli sporidi che appaiono più corti e tozzi.

Una questione non priva di interesse pratico riguarda il comportamento delle clamidospore nel terreno; non mi risulta esistano a questo riguardo osservazioni molto numerose. Brefeld [3] riteneva che il fungo potesse vivere saprofiticamente nel terreno; Hitchcock e Norton [5] ritengono pure probabile che le prime infezioni avvengano dalle spore dell'annata precedente che germinarono nel terreno; Piemeisel [13] ritiene possibile la formazione di sporidi in gran numero nell'humus o composte ammucchiate. Le osservazioni di Maire [11] sono però in contrasto con le vedute di questi autori. Difatti egli otteneva un ottimo sviluppo dell'*Ustilago* in substrati artificiali, solo se la cultura era pura. Lo autore perciò subordinava la possibilità di uno sviluppo saprofitico del fungo alla assoluta purezza del mezzo culturale, ed escludeva quindi che il parassita potesse

facilmente prosperare in un mezzo impuro come terreno letamato, e trasmettere così l'infezione al granoturco nella primavera. Ricollegava invece l'infezione primaverile alle clamidospore che trascorsero l'inverno allo stato di riposo.

Nelle mie numerose prove ho ottenuto invece la germinazione delle spore con abbondante produzione di sporidi, anche se il mezzo non era sterilizzato. Se ho verificato talvolta inquinamenti (più spesso di *Penicilium* o di saccaromiceti), normalmente lo sviluppo della cultura non si arrestava se non quando, per la formazione di masse di sporidi, si era esaurita la soluzione nutritiva. In perfetto accordo invece con le vedute di Maire, ho constatato la pratica impossibilità di ottenere lo sviluppo saprofitario dell'*Ustilago* nel terreno, anche irrorato con soluzioni nutritive, di glucosio o di Cohn. Pure sterilizzando il terreno e la soluzione aggiunta non ho ottenuto che rarissime germinazioni che si arrestarono però sempre alle prime fasi. La concorrenza degli altri microrganismi, che in questo caso erano portati dalle clamidospore stesse, appariva così forte da inibire lo sviluppo del fungo. Ciò è avvenuto unicamente nel caso del terreno, perchè le soluzioni estratte dal terreno stesso hanno favorito invece sensibilmente la rapidità germinativa e la produzione degli sporidi. D'altra parte le prove riferite in questa nota, per studiare il comportamento delle spore nel terreno, dall'estate alla primavera, non mi hanno consentito di osservare — anche nei vasi periodicamente annaffiati — una sola spora germinante o la presenza di sporidi.

Le manifestazioni più gravi di Carbone riscontrate — come è noto — in seguito a forti somministrazioni di stallatico fresco, deriverebbero secondo alcuni autori dalla possibilità da parte dell'*Ustilago* di vivere e prosperare sull'*humus* del terreno. Ma a questo proposito ritengo si possa dare al fatto un'altra interpretazione. Difatti, una concimazione con stallatico fresco agisce fi-

siologicamente in un primo tempo — che può arrivare fino allo stadio di suscettibilità della pianta al Carbone — sopratutto come una concimazione azotata, poichè il fosforo ed il potassio vengono utilizzati in seguito, dopo complesse trasformazioni biochimiche del letame. Ora, è noto che un apporto notevole di azoto al terreno determina un forte rigoglio vegetativo del mais che diventa più suscettibile al Carbone. D'altra parte da prove eseguite infettando artificialmente con clamidospore un terreno, che da varî anni non riceveva che concimi minerali, ho ottenuto una infezione in 18% delle piante, mentre furono lievemente attaccate le piante della parcella di controllo. Da tutto ciò è molto probabile che la malattia si trasmetta da un anno all'altro esclusivamente per mezzo delle clamidospore germinanti a primavera, quando vengono trasportate dal vento sulla pianta, in presenza di condizioni favorevoli. Le clamidospore possono allora infettare direttamente la pianta oppure produrre sporidi (6) che sono indubbiamente il mezzo più efficace di diffusione della malattia. La raccolta tempestiva e completa dei tumori rappresenta sempre, quindi, il mezzo principale di lotta contro il Carbone.

Dallo studio del comportamento delle spore nel terreno, dall'estate alla primavera, è risultato evidente — nei vasi periodicamente annaffiati — l'effetto negativo della copertura del terreno, e l'effetto pure negativo del sole, sulle spore superficiali, nel periodo da gennaio a maggio. L'interramento delle spore poi, ha agito in maniera nettamente negativa sulla loro vitalità rispetto a quella delle spore disposte superficialmente. È bastato al riguardo un interramento di pochi centimetri perchè il fenomeno si verificasse in modo evidente.

L'umidità del terreno ha distrutto la vitalità di gran parte delle spore più o meno interrate, ed in misura crescente da febbraio a giugno, mentre ha avuto effetto positivo sulle spore disposte superficialmente. Si deve

però osservare che in pratica le spore non possono restare perfettamente superficiali, almeno in numero rilevante, poichè le lavorazioni che seguono la cultura del granoturco, prima che questa pianta ritorni sullo stesso appezzamento, fanno sì che le spore riescono intimamente mescolate al terreno. In natura quindi l'umidità dovuta alle pioggie, nel periodo da febbraio all'epoca della semina del mais, non dovrebbe mancare di produrre lo stesso effetto che si è controllato sperimentalmente, e cioè la perdita di gran parte delle spore, che sono invece rimaste perfettamente illese nei vasi asciutti. La maggior vitalità delle spore poste nel terreno annaffiato e che sfuggirono all'alterazione, rispetto a quelle dei vasi asciutti, non può togliere una seria importanza ad una così ingente distruzione di spore. Il fattore umidità del terreno potrebbe quindi acquistare una notevole importanza pratica, anche tenendo conto, come risulta dalle prove riferite di disseminazione artificiale di clamidospore nel terreno, che il numero delle spore stesse è in rapporto con le manifestazioni della malattia

Nello studio delle condizioni ambientali favorevoli al Carbone del mais, occorrerebbe quindi distinguere il periodo da febbraio a maggio da quello successivo che si accompagna allo sviluppo della pianta, dato che — come ho dimostrato nella nota precedente [2] — le manifestazioni della malattia sono nettamente favorite dall'irrigazione e cioè da condizioni di maggiore umidità realizzate dal tempo in cui il granoturco incomincia ad essere suscettibile al Carbone. Da quanto si è esposto e dimostrato, apparirebbe che le condizioni più favorevoli per la malattia si realizzassero in seguito ad un andamento stagionale secco da febbraio a maggio, piovoso od umido invece in seguito. Non era privo di interesse osservare se ciò si fosse realizzato nella pratica. Nel seguente prospetto sono indicate le pioggie in millimetri cadute nei mesi indicati, relativamente alla annate 1933-1934 e 1935, nella

regione dell'Agro Romano (Dati forniti dal Ministero della Aereonautica):

	Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio
1933	113.0	67.0	49.7	85.2
1934	68.4	166.0	55.8	69.9
1935	40.0	19.6	17.8	19.0

Se si tien conto che manifestazioni gravi della malattia si ebbero solo nel 1934, apparirà come l'entità delle pioggie nel periodo febbraio-maggio, non sia un fattore decisivo. Difatti la pioggia, come quantità e distribuzione, non è stata molto differente nelle annate 1933 e 1934, nelle quali le manifestazioni del Carbone sono state assai diverse. L'umidità del terreno deve invece esplicare una azione ben più decisiva sulla vitalità delle spore nei terreni in cui, oltre all'acqua di pioggia giunge quella irrigua. In questi casi si riproducono le condizioni realizzate nelle esperienze riferite in cui i vasi venivano costantemente annaffiati, ottenendo così per un lungo periodo nel terreno un grado di umidità notevolmente superiore a quello dei terreni non irrigabili, anche in seguito ad un andamento stagionale piuttosto piovoso. A queste conclusioni sono giunto anche da osservazioni raccolte in provincia di Novara, dove esistono vaste zone asciutte od irrigate, e dove le manifestazioni della malattia sono tipicamente più gravi nella zona asciutta. Dato che l'irrigagazione in sè stessa favorisce nettamente la malattia — anche perchè il maggior vigore che le piante vi assumono le rende più suscettibili, secondo le osservazioni di Kyle [8] — è ovvio che un altro fattore deve essere in gioco; con ogni probabilità si tratta quì del gran numero di spore uccise per l'umidità che si verifica nel terreno per le culture irrigue che stanno tra due coltivazioni successive di mais.

La calciocianamide e la kainite hanno dimostrato uno scarso effetto sulla germinazione delle spore dell'*U. Zeae*, anche a concentrazioni relativamente elevate. Le prove

eseguite in campo, con somministrazione di buone quantità di questi concimi, hanno dimostrato che essi non influiscono praticamente sulla entità dell'infezione naturale di Carbone.

Le infezioni dovute all'*U. Zeae* sono puramente locali, secondo la concorde opinione dei varî autori, e derivano dalla germinazione sulla pianta di spore o di sporidî. Ciò si è confermato in seguito all'esperienza compiuta infettando artificialmente il terreno con spore, ma isolando la parte aerea delle piante dal terreno stesso ed impedendo che sporidi eventualmente presenti nell'aria infettassero le piante, non ottenendosi alcuna manifestazione della malattia.

G. Borzini.

LETTERATURA CITATA (1).

1. Benigni E., *Note sull'Ustilago Maydis (D. C.) Corda nella valle Padana.* « Riv. di Pat. Vegetale », XVII, 3-4, pp. 57-72, 1927.
2. Borzini G., *Il carbone del granoturco nell'annata 1934 nella regione dell'Agro Romano.* « Boll. della R. Staz. di Pat. Vegetale di Roma », Anno XV, Nuova Serie, pp. 96-115, 1934.
3. Brefeld O., *Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mycologie.* Die Brandpilze. Münster, 1895.
4. Clinton G., *The smuts of Illinois agricultural plants.* « Ill. Agr. Exp. Sta. Bul. », 57, pp. 321-335, 1900.
5. Hitchcock A. S. and Norton J. B. S., *Corn smut.* « Kan. Agr. Exp. Sta. Bul. », 62, pp. 162-212, 1896.
6. James W. M., *The mode of entrance of Ustilago Zeae into corn.* « Phytophat. », 24, n. 9, pp. 1012-1020, 1934.
7. Jones E. S., *Influence of temperature on the spore germination of Ustilago Zeae.* « Jour. Agr. Res. », 24, pp. 593-597, 1923.
8. Kyle C. H., *Relation between the vigor of the corn plant and its susceptibility to smut (Ustilago Zeae).* « Jour. Agr. Res. », 41, pp. 221-231, 1930.
9. Laverdo J., *Les maladies cryptogamiques des ceréales.* Paris, 1892.

(1) Vedere anche la letteratura contenuta nel mio lavoro qui citato.

10. Leszczenko P., *Wplyw odczynu srodowiska na kielkowanie zarodnikow Vericillium alboatrum R. ed B. i Ustilago maydis Tul.* « Mém. Inst. Nat. Polonais d'Econ. Rur. à Putawy » vii, part. A, pp. 402-435, 1926. (Rec. « The Rew. of Appl. Mycol. », VI, p. 307, 1927).

11. Maire R., *Note sur le développement saprofitique et sur la structure cytologique des sporidies levûres chez l'Ustilago maydis.* « Bul. Soc. Mycol. de France », 14, pp. 161-173, 1898.

12. Novopokrovsky I. V., & Skaskin F. D., (*Effect of temperature on the germination of the chlamydospores of cereal smuts (genus Ustilago).* « Rec. The Rev. of Appl. Myc. », V, pp. 152, 1926.

13. Piemeisel F. J., *Factors affecting the parasitism of Ustilago Zeae.* « Phytophat. », 7, pp. 294-307, 1917.

14. Stakman E. C., *Spore germination of cereal smuts.* « Univ. Min. nesota Agr. Exp. Station », brill. 133, pp. 1-15, 1913.

15. Uetting W., *Ueber dem Einfluss der Temperatur auf die Keimung und Geschlechtverteilung bei Brandpilzen.* « Zeitschr. für Bot. », 24, 10-11, pp. 529-557, 1931.

Rilievi su alcuni Citrus a frutto acido presenti in India in relazione alla ricerca di forme resistenti al " mal secco „

La gravità dei danni arrecati dal mal secco ai limoneti di Sicilia ha indotto questa Stazione, oltre che allo studio ed alla applicazione di mezzi diretti di lotta contro questa infezione, a preoccuparsi anche di ricercare varietà di limoni e forme affini con la speranza di riuscire ad individuarne qualcuna che si dimostri resistente alla *Deuterophoma tracheiphila*.

La soluzione di problemi di questo genere richiede un lungo e paziente lavoro e particolarmente per il limone presenta delle difficoltà che forse non si riscontrano nel caso di altre piante coltivate.

Fin dall'antichità si è sempre ripetuto che il limone sia una pianta di origine asiatica diffusasi poi ed affermatasi nel bacino del mediterraneo. In seguito all'importanza che questa cultura vi è andata assumendo, si sono venute a creare numerose varietà aventi in comune caratteristiche tali da rendere il limone una entità così ben definita che si è sentita la necessità di staccarla dal *Citrus medica* e riconoscerla come specie a sè (*C. limonum*).

L'affermarsi di questa cultura ha fatto sorgere quasi un monopolio mediterraneo per il limone cosicchè, allorquando nelle altre parti del mondo la richiesta sempre crescente di questo frutto ha fatto pensare alla convenienza di coltivare nel paese la pianta, i primi esemplari sono stati importati dalle zone citricole mediterranee o immediatamente contigue.

Per tal modo si è verificato il fatto che sia in California che in Giappone, i paesi nei quali si è avuta una certa estensione nella produzione dei limoni, le varietà

coltivate sono discendenti diretti delle forme mediterranee.

La ricerca quindi di forme di limone che dessero speranza di possedere una resistenza al mal secco andava per primo orientata verso quei paesi ove si avesse ragione di pensare che potessero esistere forme indigene, antiche progenitrici di quelle mediterranee, aventi probabilmente delle qualità di resistenza che le discendenti, in seguito alla lunga cultura, avevano perduto.

Il riferimento ad un'origine orientale del limone ed alcune informazioni assunte portarono alla decisione di prescegliere, come primo punto di partenza per le ricerche, l'India, che si presentava, all'analisi degli elementi disponibili, una delle zone più promettenti di risultati.

Il Prof. Petri volle incaricare me di tale missione ed ora, ritornato in patria, penso che possa essere di qualche interesse esporre quanto ho potuto osservare e raccogliere in quel paese durante il periodo in cui vi son restato.

Essendosi trattato di una ricerca di tipi di piante condotta in maggior parte seguendo un punto di vista di utilità pratica, le mie osservazioni ed il mio interesse sono stati rivolti all'esame ed alla ricerca di quelle forme i cui caratteri potessero dare delle speranze di utilizzazione commerciale, sia come produttori diretti, sia attraverso ibridazioni con le varietà nostrane.

Quanto sopra serve ad avvertire come i dati che ho raccolto non abbiano alcuna pretesa sistematica, ma siano solo un breve esposto delle mie osservazioni.

La prima constatazione che ho potuto fare appena iniziate le mie ricerche è stata quella che in India il limone non è assolutamente un prodotto commerciale ed è conosciuto da pochissime persone e queste si annoverano solo fra quelle che hanno una particolare specializzazione in agrumicultura.

Visitando i mercati delle varie località in cui mi sono

recato non ho mai visto limoni, fatta eccezione pel mercato di Bombay ove erano in vendita di questi frutti di provenienza molto spesso italiana.

Il frutto che ovunque in India sostituisce il limone è piccolo (cm. 5 diam.) generalmente sferico, con buccia liscia sottile e fornita di un profumo pungente caratteristico ben diverso da quello del limone. La polpa è bianco verdastra molto ricca in succo che è estremamente acido ed anche con un aroma caratteristico simile a quello emanato dall'olio essenziale contenuto nella buccia.

È questo prodotto che in India viene erroneamente anche chiamato *lemon* mentre il suo nome appropriato è *lime* (limetta). Le piante che producono tale frutto sono piccole, cespugliose e molto spinose e non hanno nessuno dei caratteri che sistematicamente distinguono i limoni: i giovani germogli sono verdi, i fiori bianchi e le foglie ovali sono munite di picciolo alato ben marcato e sempre presente.

Per tutti i caratteri suesposti questa pianta rientra nella sp. *C. aurantifolia* e questa determinazione è anche fatta da G. S. Cheema che è l'unico, per quanto mi consta, che abbia eseguito recentemente una classificazione dei *Citrus* indiani, sia seguendo lo schema proposto da Tanaka, sia quello di Swingle. Disgraziatamente il lavoro di Cheema si limita solo alle forme presenti nella Presidenza di Bombay ed è inoltre particolarmente rivolto alle forme che hanno qualche interesse pratico.

Il nome indigeno di questo *Citrus* è *Kagzi limbu* o *kagadi neboo* (questo nome varia a seconda delle regioni e col termine *limbu* o *neboo* vengono indicati in India tutti quei frutti di agrumi a succo acido).

È una pianta che richiede pochissime cure culturali e sovente ne ho osservato esemplari spontanei identici come comportamento e produzione a quelli coltivati.

A Calcutta e diffusa nel Bengala ho trovato una varietà di *Kagzi* che differisce dal tipo dominante solo per la forma del frutto che è limoniforme e a volte piriforme.

Queste due forme, come ho già detto, corrispondono in tutto alle caratteristiche presentate dal *C. aurantifolia* e sulla loro posizione sistematica non può esservi alcun dubbio.

Un altro gruppo però abbastanza numeroso è di dubbia classificazione in quanto pur presentando alcuni dei caratteri del *C. aurantifolia* non li presenta tutti avendo costantemente le foglie prive di picciolo alato.

Le varie forme di questo gruppo hanno inoltre una particolarità organolettica che le avvicina tra loro e che è data dall'odore dell'olio essenziale contenuto nelle foglie e che in misura più o meno marcata è data anche dalla buccia del frutto: è un odore completamente diverso da quello del *lime* e del limone ed è particolarmente disgustoso.

In questo gruppo si possono riunire:

Pati. — (Diffuso molto nel Bengala). I frutti sono identici a quelli del *Kagzi* precedentemente descritto. La pianta non ha un grande sviluppo, però è più grande del *Kagzi,* i rami sono più grossi e non è così cespugliosa.

Colomba. — (Caratteristica dell'est Bengala). La pianta è pochissimo spinosa e quasi raggiunge le dimensioni di un nostro limone. Le foglie sono strette e lunghe ed assomigliano a quelle del *C. medica.* I frutti sono limoniformi di media misura.

Italian lemon. — Di questa forma ho visto una sola pianta nel frutteto del Collegio di Agricoltura di Lyallpur (Punjab). Mi è stato riferito che essa è là da moltissimi anni, ma nessuno ne ricorda nè l'origine nè la provenienza. L'aspetto e le dimensioni della pianta a prima vista la fanno ritenere un limone, ma essa non ha nè i fiori nè i giovani getti colorati. I frutti sono più grossi del limone e non sono mammellonati; la buccia è spessa, liscia e l'odore disgustoso di essa è molto pronunciato mentre il succo ha un sapore molto simile a quello del limone.

Il nome di *Italian lemon* col quale questa pianta viene indicata fa pensare che forse una volta essa abbia servito da portainnesto per qualche varietà mediterranea, forse italiana, importata e che poi, essendo morto o soprafatto l'innesto, il soggetto rimasto sia stato sempre ritenuto come una varietà importata. È certo però che a Lyallpur tale pianta era ritenuta fino alla mia visita come un autentico limone ed è d'altra parte strano come di piante simili ne abbia incontrate in India quella sola, nè nessuno ha potuto dirmi di averne viste altre.

Al Forest Research Institute di Dehra Dun (U. P.) ho trovato dei frutti identici per aspetto, aroma e sapore a quelli dell'*Italian lemon* di Lyallpur, ma la pianta che li portava, chiamata localmente *Gandharaj*, era del tutto diversa: molto cespugliosa e spinosa e con una grande tendenza a produrre polloni. Uno dei suoi pregi è quello di fruttificare tutto l'anno tanto da essere considerata come una pianta ornamentale.

Passate così rapidamente in rassegna le forme di *C. aurantifolia* e di quell'altro gruppo che ha alcuni caratteri in comune con esso, elencherò tutte quelle altre forme da me viste in India e che per alcuni loro caratteri morfologici ritengo possano ascriversi al *C. limonum*.

Kagzi China. — (Presente nel Bengala e nell'Assam. In quest'ultima regione il nome indigeno è Pati o Sohmad). Foglie con picciolo non alato e con odore di limone. Giovani germogli verdi. Fiori leggermente colorati. Frutti di forma variabile sulla stessa pianta: affusolati o limoniformi, a volte con costolature, con mammilla lunga e appuntita. Buccia di spessore normale con aroma di limone. Succo acido con le stesse caratteristiche del limone. L'aspetto della pianta non differisce da quello dei nostri limoni ed essa è fornita di poche spine.

Behari. — Questa forma l'ho trovata nel giardino botanico di Saharanpur (U. P.) e senz'altro essa può ritenersi un limone in quanto possiede tutti gli elementi

richiesti per essere inclusa nel *C. limonum*: foglie con picciolo non alato, fiori e giovani getti colorati. I frutti sono riuniti in grappoli, sono piccoli (7 cm.) e forniti di una mammilla molto pronunciata ed appuntita. La pianta assomiglia a quella dei nostri limoni ed è poco spinosa. A Saharanpur mi è stato riferito che le poche piante di *Behari* lì coltivate vi si trovano da lungo tempo e nulla di preciso ho potuto sapere circa un eventuale loro luogo di origine: ritenevano che essa fosse originaria del Bihar, donde il nome, però un mio giro in detta regione mi ha fatto convincere che questa supposizione abbia ben poco fondamento in quanto nel Bihar non ho trovato nessuna forma simile al Behari nè nessuno ha saputo dirmene nulla.

Bedana. — Trovata pure a Saharanpur e questa forma si differenzia dal *Behari* solo per la forma dei frutti che sono più tondeggianti e che inoltre sono apireni.

Galgal. — Questa forma l'ho vista a Lyallpur al College of Agriculture e nel bazar di Dehra Dun (U. P.). I frutti sono ovali, senza mammilla, grossi (12 cm. × 9), a buccia liscia piuttosto spessa. Il succo è abbondante, ma non eccessivamente acido.

In appendice a queste forme se ne devono aggiungere poche altre i cui frutti assomigliano al cedro per quanto Cheema le ponga tra i limoni.

Id limbu. — (Presidenza di Bombay). Frutti limoniformi più grossi dei limoni.

Jamburi. — Il frutto è molto simile al cedro, sia per dimensioni sia per aspetto e spessore della buccia. Il succo è molto acido. È una pianta molto rustica e viene impiegata quasi sempre come portainnesto per gli aranci.

Karna. — (Saharanpur). Molto simile al *Jamburi* di cui forse non è altro che una varietà. Anche questa forma viene impiegata come portainnesto.

Nell'Assam e nel Bengala ho trovato inoltre una forma avente tutti i caratteri del limone senonchè il frutto,

pur avendo l'aroma e il sapore del limone, aveva la buccia e la polpa dello stesso colore dell'arancio. Nell'Assam è chiamata *Soh-myndong* e nel Bengala *Gora-nebu*.

La coltivazione del limone mediterraneo praticamente in India non esiste, si trova solo qualche esemplare allevato per curiosità e quasi sempre si tratta delle varietà americane *Lisbon* ed *Eureka*.

Alla Tarnab Farm vicino a Peshawar (N. W. F. P.) ho visto un impianto sperimentale di una certa estensione costituito da piante della varietà *Lisbon*. È un limoneto in ottime condizioni di vegetazione e di produttività, ma con tutto ciò esso non ha destato nessun interesse fra gli agricoltori e non si è avuta nessuna diffusione della cultura di questa pianta.

Per raccogliere il maggior numero possibile di notizie che mi illuminassero e mi orientassero nelle mie ricerche ho ritenuto inoltre opportuno, tutte le volte che mi si è presentata l'occasione, di studiare le collezioni degli erbari nonchè di riguardare la letteratura sull'argomento.

L'opportunità di eseguire tali ricerche mi è stata offerta sia all'Istituto di Ricerche Forestali di Dehra Dun sia al giardino Botanico di Howrah (Calcutta) sia al Botanical Survey of India a Calcutta.

Perchè si possa avere un'idea per quanto possibile precisa su quello che è stato scritto in India in merito all'esistenza di forme di limoni, mi è sembrato utile riportare per esteso ed in ordine cronologico le notizie bibliografiche che ho potuto raccogliere.

Royle (1839) ci dice che nel tratto di jungla ai piedi dell'Himalaya ha trovato il *Puharee Kaguzee* avente caratteristiche di limone.

Wight (1840) sotto il nome di *C. limetta* (Risso) descrive una pianta che corrisponde in tutto e per tutto al lime (*Kagzi*). Una tavola che si riferisce a questo agrume corrisponde perfettamente alla descrizione, ma

qui non viene più chiamata *C. limetta,* ma *C. limonum* (Risso).

Voigt (1845) in un catalogo delle piante coltivate nel Giardino Botanico di Calcutta dice: « *C. limonum,* fiori bianchi sfumati di rosso. Colline di Garrow e alle basi dell'Himalaya; *Karna neboo,* Coltivato ».

Drury (1873) « *C. limonum.* Spontaneo ai piedi dell'Himalaya ».

Brandis (1874) dice: « Royle parla di una forma, apparentemente spontanea trovata nel N. O. dell'Himalaya chiamata *Behari nimboo* o *Pahari Kaguzi* avente caratteristiche del limone. Anche Madden, nella sua relazione sul Terai ed altre montagne del Kumaon, parla di due specie di Citrus, probabilmente *limonum* e *medica, Jamir* e *Bijaura.* Certamente fra gli esemplari raccolti da Royle, Stewart, me stesso ed altri nel N. O. dell'Himalaya vi sono differenti forme; ma esse richiedono ulteriori ricerche sul posto e per il momento sembra più opportuno unirle tutte sotto *C. medica* ».

Hooker (1875) nella sua flora dell'India fa la seguente classificazione delle forme indigene:

« *C. medica* var. 2 *Limonum,* picciolo marginato o alato, frutti medi, ovoidi, gialli, mammillati, buccia sottile, polpa abbondante, acida;

C. medica var. 3 *acida,* picciolo molto più corto della foglia, frutti ovoidi e globosi, piccoli, acidissimi. Le forme a frutto grande assumono la forma del Cedro e le piccole quelle del lime dell'India Occidentale ».

Bentley e Trimen (1880): « *Citrus limonum.* La forma spontanea è originaria nelle provincie del nord ovest dell'India fino a 4000 piedi di altitudine dove si trovano numerose forme allo stato spontaneo ».

Murray (1881): « *C. limonum* Risso. *Lime* acido comune. Nativo dell'India, coltivato nei giardini, spontaneo in Birmania ed a Chittagong ».

Bonavia (1888) è forse il primo botanico che ha fatto uno studio comprensivo dei *Citrus* indiani coltivati, però

esso non ha proposto uno schema di classificazione e si è limitato ad una descrizione dei frutti delle forme da lui viste ponendo cedri, limoni e *limes* tutti in uno stesso raggruppamento. Si è preoccupato inoltre di ricercare le possibili origini dei vari tipi basandosi molto su considerazioni di ordine filologico e storico e dando molto peso all'influenza del clima, alla natura del terreno ed alle condizioni ambientali come importanti fattori influenzanti la natura e l'aspetto dei frutti, a tali fattori egli attribuisce anzi maggior importanza che alla possibilità del sorgere di forme nuove attraverso ad ibridazioni spontanee.

Watt (1889) : « *C. medica* var. *Limonum*. Limone. Coltivato abbondantemente nel Sud Europa ed in India. Sembra molto probabile che la forma spontanea di questa pianta non sia stata ancora scoperta. Secondo la mia esperienza tutte le piante dell'Himalaya e delle colline del Khasia sono forme spontanee del *lime* o del cedro, ma non del limone. È molto probabile che il limone sia di origine molto più recente che il cedro ed il *lime*. Si dice che il Dr. Royle abbia trovato la pianta allo stato spontaneo nel nord dell'India e Atkinson riporta che Madden ha parlato del *jamira* o varietà spontanea trovata nel Kumaon. Le piante di Royle erano conosciute localmente col nome di *behàri nimbu* o *pahari-khagazi* ».

In una edizione successiva della sua opera (1908) Watt si esprime più esplicitamente dicendo : « La forma spontanea di *C. limonum* non è stata segnalata in India. La pianta descritta da Royle, Madden e altri è più probabilmente un *lime*. I limoni sono tuttavia coltivati quà e là. Però il vero limone è molto raramente coltivato altro che come curiosità. Il lime acido è senza dubbio nativo dell'India ed è quello che si trova spontaneo sulle pendici dell'Himalaya ».

Duthie (1903) : « *C. medica* var. 2 *limonum*. Si è detto sia stato trovato allo stato spontaneo nel Kumaon (il *Pahari- khagazi* di Royle) ».

Numerosi altri autori non fanno alcuna menzione dell'esistenza di forme di *Citrus* nella flora indiana.

Molte delle fonti consultate di cui ho riportato i punti principali riguardanti il soggetto delle mie ricerche sono quelle medesime a cui ha attinto De Candolle nella compilazione della sua opera sull'origine delle piante coltivate. Le conclusioni a cui giunge questo autore gli permettono infatti di indicare l'India come una delle patrie di origine del limone e tali conclusioni non potevano essere differenti in quanto gli AA. anglo-indiani, alle cui asserzioni egli si affida, concordemente affermano di aver trovate nel paese piante di limone. Dalle descrizioni piuttosto vaghe da essi fornite sugli esemplari osservati era anche quasi impossibile riuscire a farsi una idea esatta di cosa realmente fossero queste piante.

Se la sistematica dei *Citrus* è ancora oggi un problema spinoso, a cui solo recentemente è stato dato un forte impulso verso una soluzione dalle ricerche di Tanaka, Swingle e altri, è più che ovvio come le cognizioni del secolo scorso fossero tanto più limitate e la mancanza di criteri uniformi da scegliere per individuare le diverse forme abbia creato uno stato di fatto molto confusionario in materia.

La causa principale poi di questa confusione va ricercata nel fatto che, al pari degli indigeni che comprendono sotto un unico nome gli agrumi a buccia gialla ed a polpa acida, gli autori succitati, ritenendo forse il termine *lime* un sinonimo di limone, non hanno fatta alcuna distinzione tra questi due gruppi.

Ancora oggi in India comunemente tale distinzione è raramente fatta appunto perchè il limone vi è una pianta pressochè sconosciuta che vien confusa col lime.

Ad ogni modo, come si può ricavare dall'elenco fatto all'inizio di questa relazione, le forme da me incontrate e che possono ascriversi al *C. limonum* sono ben poche e solo due; il *Behari* ed il *Bedana* trovati a Saharanpur, hanno caratteri tali da potersi avvicinare al tipico limone mediterraneo.

Sull'origine di queste due piante purtroppo nulla si sa. Bonavia però ne parla come già esistenti nel 1888 nel Giardino Botanico di Saharanpur ed anche lui dichiara di ignorarne l'origine.

La grande differenza esistente tra queste due piante e tutti gli altri tipi osservati in India mi aveva fatto pensare ad una loro remota provenienza europea e sospettavo che esse fossero le discendenze di agrumi importati dai primi europei che avessero messo piede in India; ma considerando la grande distanza che intercorre da Saharanpur al mare ed il fatto che in nessun altro luogo ho trovato piante del genere mi lascia un po' perplesso nel ritenere probabile tale ipotesi.

D'altro canto la prima segnalazione di una specie ritenuta limone in India è fatta da Royle e tale segnalazione viene concordemente ricordata dai ricercatori e divulgatori successivi. Il nome indigeno di questa pianta era *Puharee* o, secondo Brandis, anche *Behari;* il fatto poi che il Giardino Botanico di Saharanpur è relativamente vicino alla zona esplorata da Royle e che inoltre questo botanico fu direttore o ebbe rapporti stretti per un certo tempo con questo Giardino porta a supporre che le piante di *Behari* che attualmente vi si trovano appartengano allo stesso ceppo che destò l'interesse di Royle. In questo caso il *Behari* sarebbe l'unico limone tipico indigeno che finora si conosce. Il *Bedana*, molto simile al *Behari*, sarebbe forse, anche per il fatto della sua apirenia, una forma ingentilita del primo. È un gran peccato che non esista nessun riferimento preciso a tutto ciò, almeno per quanto mi consta, e che si debba solo affidarsi a congetture.

All'Istituto Forestale di Dehra Dun, dove è stato trasportato l'erbario del Giardino Botanico di Saharanpur, ho potuto osservare un campione raccolto da Royle, ma esso non aveva nessun rapporto col *Behari* da me visto e non portava alcuna determinazione.

Per chiarire la questione l'unico mezzo sicuro sarebbe

quello di una sistematica esplorazione della zona battuta da Royle e da quelli che l'hanno seguito, ma purtroppo questo non era nelle mie possibilità, nè il tempo che avevo a mia disposizione mi permetteva di organizzare un'esplorazione di questo genere.

Il potere stabilire in modo assoluto l'origine del *Behari* è senza dubbio un problema interessantissimo e di somma importanza in quanto ci permetterebbe di affermare o di escludere se il limone tipico è originario dell'India e ciò porterebbe un contributo notevolissimo alla conoscenza della evoluzione di questa pianta così importante.

Un fatto in apparenza semplice, ma che a mio avviso merita una certa attenzione è il seguente: il comune *lime, Kagzi neboo*, è l'unico agrume a frutto acido che cresca spontaneo o sia coltivato in tutta l'India ed il cui consumo sia generalizzato al massimo; degli altri agrumi acidi alcune forme hanno una scarsa diffusione e sono limitate a particolari regioni (*Pati, Colomba, China, Kagzi* nel Bengala e *Galgal* a Dehra Dun e nel Punjab), mentre tutte le altre da me incontrate sono sporadiche e presenti quasi come curiosità in una sola località ed in unico o pochissimi esemplari.

Tranne che per il *Behari* e per il *Bedana* di cui, fino a prova contraria, può essere discussa l'appartenenza ad un ceppo originario dell'India, tutte le altre forme sono senza dubbio indigene ed il fatto di trovarne uno o pochissimi esemplari localizzati in un singolo posto fa pensare con sufficiente ragione che queste piante siano state portate dalle foreste o per qualche determinato scopo o per caso (semi diffusi dall'uomo nel cibarsi di frutti raccolti nelle foreste) e che siano dei rappresentanti di un complesso di forme spontanee di cui la scienza non è riuscita ancora ad impadronirsi per mancanza di ricerche accurate e perseveranti.

Un fatto che avvalora queste ipotesi lo si ha se si prende in considerazione la distribuzione delle località dove si

verifica il ritrovamento sporadico di queste forme: tali località sono tutte nella piana gangetica ai piedi dell'Himalaya, cioè a relativa distanza dalle foreste dove i vari esploratori ci hanno segnalato l'esistenza di forme di *Citrus* a frutto acido.

Un caso che potrebbe collegarsi come esempio a quanto ho detto è ciò che ho osservato alla Rice Experiment Station di Sabour (Bihar).

In questo Istituto è stato recentemente costituito un reparto per la frutticultura e per l'agrumicultura si è proceduto ad impiantare una collezione di varietà sia indigene che esotiche. Trattandosi di piante giovanissime esse erano alla loro prima fioritura al momento della mia visita e per ciò che riguarda i limoni, oltre ad alcune varietà importate dagli Stati Uniti, vi si trovava riunito un certo gruppo di forme indigene raccolte sulle montagne vicine in seguito ad alcune esplorazioni effettuate per questo scopo.

Tra queste forme, tre avevano le foglie e i fiori con i caratteri del limone ed esse erano designate con i nomi di *Hill variety*, *Nepali oblong* e *Nepali round*. Di queste piante mi è stato promesso l'invio di talee nella stagione opportuna.

L'iniziativa di raccogliere e coltivare forme spontanee messa in atto a Sabour forse non è altro che il ripetersi di quanto è stato fatto molto tempo fa nelle altre località da me visitate, tentativo che in quei posti è rimasto all'inizio e di cui si è perduta la documentazione ed il ricordo.

Nello spoglio fatto negli erbari di Calcutta e di Howrah ho trovato inoltre parecchio materiale raccolto in Birmania e ritengo che questa regione presenti forse un certo interesse per la ricerca di forme indigene di limoni in quanto ho potuto osservare almeno quattro forme di differenti provenienze che apparentemente possono avere una qualche relazione col limone.

Non ho ritenuto però consigliabile recarmi anche in

quel paese poichè la stagione già avanzata non mi avrebbe permesso di rendermi pienamente conto di quanto poteva esservi di interessante per il fatto che avrei trovato le piante spoglie di frutti. Era inoltre necessario che non fossi sorpreso in India dall'inizio dei forti calori che avrebbero pregiudicato la buona conservazione delle piante che avevo raccolto e che intendevo portare in Italia.

Quanto ho esposto finora è tutto ciò che ho potuto raccogliere nei due mesi di permanenza in India, però la somma d'informazioni e di materiale messa assieme non ha nessuna pretesa di essere completa ed esauriente per il problema che mi era stato affidato.

La difficoltà di raccogliere utili e tempestive notizie rende molto complesso e lungo il compito di chi si rechi per simili ricerche per la prima volta in un paese del genere e ritengo che forse il risultato maggiore conseguito consista nelle impressioni di ordine generale raccolte, che possono permettere di procedere con più sicurezza e con notevole economia di tempo in eventuali ulteriori ricerche.

L'India è senza dubbio un paese ricchissimo, per molti aspetti ancora vergine, e nel caso particolare ritengo che essa sia un campo fecondo per ricerche floristiche.

Di quasi tutte le forme di *Citrus* che ho descritte sono riuscito a portare in Italia giovani piante o frutti di cui sono stati posti in terra i semi.

Attualmente tutto questo materiale si trova al Campo sperimentale istituito da questa Stazione presso il Consorzio Provinciale per la Viticoltura a Lecce e tale località è stata appositamente scelta perchè le piante importate vi rimangano in quarantena in modo da rendere impossibile la diffusione di qualche eventuale parassita per i nostri agrumi.

Appena le piante mostreranno di essersi ambientate ed avranno ripreso il loro vigore dopo le inevitabili sofferenze subite sia per il lungo viaggio sia per il cambia-

mento d'ambiente, esse verranno inoculate con la *Deuterophoma tracheiphila*.

Dal loro comportamento in seguito all'inoculazione si potrà così stabilire la loro capacità di reazione in confronto a questo parassita e si potrà determinare se fra esse ve ne è qualcuna che si dimostri resistente al male.

Qualora questa prima prova desse risultati positivi confortanti allora si utilizzeranno le forme manifestatesi resistenti sia cercando di migliorarle per mezzo di stimoli colturali sia incrociandole con i nostri limoni in vista di ottenerne degli ibridi resistenti al *mal secco*.

La via da seguire può sembrare così molto lunga, ma i risultati a cui essa può condurre sono di tale interesse che il tempo che può essere impiegato a percorrerla non deve spaventarci.

Il primo passo verso la ricerca di forme resistenti di limone è stato così compiuto ma esso non rimarrà un tentativo isolato, in quanto questa R. Stazione intende perseverare in questo indirizzo e non lasciare intentata alcuna possibilità: a questo scopo è già allo studio un nuovo viaggio esplorativo sempre nei paesi ad oriente del bacino mediterraneo.

Oltre alla ricerca di forme indigene di limoni era naturalmente anche mio compito indagare sull'eventuale presenza in India della *Deuterophoma tracheiphila* e su questa questione posso affermare che tale parassita non esiste in quel paese.

Di malattie che hanno una certa diffusione e che possono avere un'apparente analogia col « mal secco ». Ve ne sono due: una è caratteristica dei *limes* e si verifica con particolare intensità nelle regioni ove durante i mesi invernali la temperatura può abbassarsi notevolmente ed è l'antracnosi causata dal *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

L'altra malattia colpisce quasi tutti gli agrumi coltivati in località a terreno molto superficiale; si manifesta

con un deperimento generale che può concludersi con la morte della pianta. Non è malattia parassitaria ed è causata dalla scarsa profondità del terreno.

A. Biraghi.

Ed ora, al termine di questa mia relazione, sento il dovere di rivolgere un caldo ringraziamento a tutte quelle persone ed Enti che con tanta cortesia e cordialità mi hanno aiutato nelle mie ricerche ed in molti casi hanno facilitato il mio compito. In particolar modo mi è grato ricordare l'Imperial Council of Agricultural Research, il Prof. C. C. Calder direttore del Botanical Survey of India ed il Dr. G. S. Cheema del Collegio di Agricoltura di Poona.

SUMMARY.

A report is given on a survey effected in the north and west of British India with the purpose of collecting indigenous forms of lemons to be tested for resistance to « mal secco » caused by *Deuterophoma tracheiphila*. Lemons (C. limonum) are very scarce in India and their presence is practically limited to a few experimental cultivations of american or european varieties; the plant that in the common use takes its place is the lime (C. aurantifolia) which is spread all over the country and which is often to be found growing wild.

Many indigenous forms of citron (C. medica) are frequently met, but plants having all the character of lemon have been found only in one instance at the Botanical Gardens of Saharanpur (U. P.). They belonged to two varieties which differed very little one from another, but it is difficult to establish if they can be considered as indigenous forms or if they are a progeny of european types anciently imported.

The majority of the forms of Citrus bearing fruits with yellow rind and with sour juice have morphological characters which are intermediate between those of the lime and those of the lemon and they apparently

must be grouped separately. The essential oil of all these forms has a particular odour which is characteristically different from that of the lime and that of the lemon.

Considering the observations collected, it appears rather difficult to admit the statement given by De Candolle that India is to be considered as the native country of the lemon.

The statements of the anglo-indian authors and explorers on which De Candolle's opinion was based are not very precise and the forms they describe are more probably forms of lime.

This confusion is easily explained considering the fact that a proper distinction between lime and lemon is a fairly recent acquisition and that still now in India in common speach the terms lime or lemon are used nearly as a synonym.

OPERE CONSULTATE.

Bamber C. J., *Plants of Punjab*. Lahore, 1916.

Beddome R. H., *The flora sylvatica of Southern India*. Madras.

Bentley R. e Trimen H., *Medicinal plants*. London, 1880.

Bonavia E., *The cultivated oranges and lemons of India and Ceylon*. London. 1888.

Brandis D., *The forest flora of north-west and central India*. London, 1874.

Chaudhuri H. e Singh G., *The wither-tip disease of Citrus plants*. « Journ. Proc. Asiatic Soc. of Bengal », N. S., 26, 524-532, 1933.

Cheema G. S., *A study of the Citrus Varieties of the Bombay Presidency*. « Current Science », 2, 298-304, 1934.

Cheema G. S. e Bhat S. S., *The die-back disease of Citrus trees and its relation to the soils of western India*. « Dep. Agr. Bombay », bull. n. 155, 1929.

De Candolle A., *L'origine delle piante coltivate*. Milano, 1883.

Drury H., *The useful plants of India*. 1873.

Duthie J. F., *Flora of the Upper Gangetic plain*. Calcutta, 1875.

Hooker J. D., *The flora of British India*. London, 1875.

Hume H. H., *The cultivation of Citrus fruits.* London, 1926.

Kanjilal U., *Forest flora of the school circle N. W. P.* Calcutta, 1901.

Kurz S., *Forest flora of British Burma.* Calcutta, 1877.

Murray J. A., *Plants and drugs of Sind.* 1881.

Risso A. e Poiteau A., *Histoire naturelle des orangers.* Paris, 1818.

Royle J. F., *Illustrations of the botany of the Himalayan mountains.* London, 1839.

Voigt J. O., *Catalogue of the plants cultivated in the Botanical Garden of Calcutta and Seranpore.* Calcutta, 1845.

Von Mueller F., *Select extra-tropical plants.* Calcutta, 1880.

Watt G., *Dictionary of the economic products of India.* 1889.

— *The commercial products of India.* 1908.

Wight R., *Icones plantarum Indiae Orientalis.* Madras, 1840.

Le alterazioni cromatiche parassitarie del legname in Italia

II. — Una intensa colorazione del legno di pino causata da *Sphaeropsis Ellisii* Sacc., var. *cromogena* G. Goid. *var. n.*

Fra i numerosi funghi cromogeni che ho isolato dal legno di conifere uno di essi ha attirato in modo particolare la mia attenzione per la sua diffusione e per le sue capacità patogene, che non ho riscontrato finora eguali in nessuno degli altri. Si tratta di una forma dello sferossidale *Sphaeropsis Ellisii* Sacc. che io, appunto per il fatto che esso colora il legno, indico col nome di var. *cromogena*.

Ho dedicato alla malattia prodotta da questo fungo una lunga serie di ricerche, tanto in natura che in laboratorio; ho esaminato le caratteristiche anatomiche sia del parassita e specialmente dell'ospite; ho potuto stabilire l'origine, gli agenti di diffusione della malattia che ho poi riprodotto fedelmente con inoculazioni artificiali. Tutto questo viene esposto nelle pagine seguenti.

Il presente lavoro rappresenta lo schema su cui verranno eseguiti i successivi contributi alla conoscenza delle alterazioni cromatiche del legname, in Italia, prodotte dai funghi. Specialmente alcune particolarità biologiche sono trattate dettagliatamente, e ciò perchè questi funghi hanno quasi tutti un comportamento molto somigliante, per cui sarà sufficiente in seguito, quando descriverò il comportamento degli altri, segnalare unicamente le divergenze o le concordanze che essi hanno con quello descritto per la *Sphaeropsis Ellisii, cromogena*.

⁂

I primi casi di questa alterazione del legno furono riscontrati su parti di grossi tronchi di pino provenienti da una segheria situata nei dintorni di Roma. A questa segheria feci un sopraluogo nell'ottobre 1934. Ho potuto così constatare che la malattia interessava una partita piuttosto considerevole di legname, già stagionato. I tronchi presentavano delle larghe zone su cui il legno aveva assunto una colorazione nero-bluastra che penetrava profondamente, talvolta fino ai più vecchi anelli di accrescimento annuale.

In alcuni l'alterazione era diffusa abbastanza uniformemente, mentre nel maggior numero dei casi le parti colorate erano inframezzate da altre in cui il tessuto legnoso conservava l'aspetto normale. Ciò si vede chiaramente anche dalla Tav. II che riproduce appunto la parte esterna di uno di questi tronchi. Così pure le assi che da essi ne erano state ottenute, erano di conseguenza gravemente deturpate.

All'esame microscopico ho potuto stabilire subito che tale alterazione aveva origine fungina ed era dovuta appunto alla grande quantità di ife di colore oscuro, che avevano permeato il tessuto legnoso.

Siccome, mi fu detto, che la provenienza dei tronchi che io esaminavo era la pineta di Castel Fusano e quella di Castel Porziano (in cui avevano subito anche la regolare stagionatura) rivolsi allora le mie ricerche in quelle località; e fu specialmente nella pineta di Castel Fusano che raccolsi il più abbondante materiale di studio e potei seguire il decorso della malattia in natura, agevolato dalla cortesia del Dr. G. Nardis, Direttore della Pineta stessa, che ringrazio vivamente.

Isolamento, caratteri morfologici e comportamento del parassita in coltura.

L'isolamento del micelio cromogeno del legno di pino, è assai agevole: basta prelevare asetticamente parti di tessuto infetto e coltivarlo in qualsiasi degli usuali substrati colturali. Io ho adoperato con ottimi risultati l'estratto di malto a 2,5%, ed anche l'infuso di carote, agarizzato. Dopo circa 48 ore dalla semina è visibile, anche ad occhio nudo, attorno ai pezzetti di legno, una effiorescenza miceliale biancastra. Il micelio cresce rapidamente, tanto che nel decorso di una settimana si è prodotta una colonia di 5-6 cm. di diametro. Le colture rimangono incolori nei primi giorni: dal 5.° in poi, però, incominciano ad assumere una tinta verde scuro nella parte centrale, che si intensifica e si espande, sempre più man mano che invecchiano (v. Tav. III).

Il micelio è costituito di ife provviste di setti non molto frequenti, ad andamento regolare, poco ramificate. Nelle colture giovani si osservano due tipi di ife, eguali a quelle che si riscontrano nell'interno dei tessuti ammalati. Le une sono di grosso calibro, di un colore bruno marrone, a contenuto protoplasmatico uniforme con pochi vacuoli situati generalmente in vicinanza dei setti; le altre di calibro assai inferiore, ialine, tortuose, di forma irregolare a contenuto protoplasmatico spesso granuloso. (Tali si vedono nelle figg. 1, 11-15). Queste ultime riproducono alcune tracheidi invase dal fungo di un legno fortemente colpito dalla malattia). Nelle colture vecchie si osserva un terzo tipo di micelio assai caratteristico: le ife sono ricoperte di incrostazioni scure di forma irregolare, costituite con ogni probabilità da ossalato di calcio (v. fig. 2). La quantità di queste incrostazioni, può essere scarsa, ma in certi casi è talmente abbondante da ricoprire la superficie dell'ifa quasi totalmente. In genere questo tipo di ife si osserva

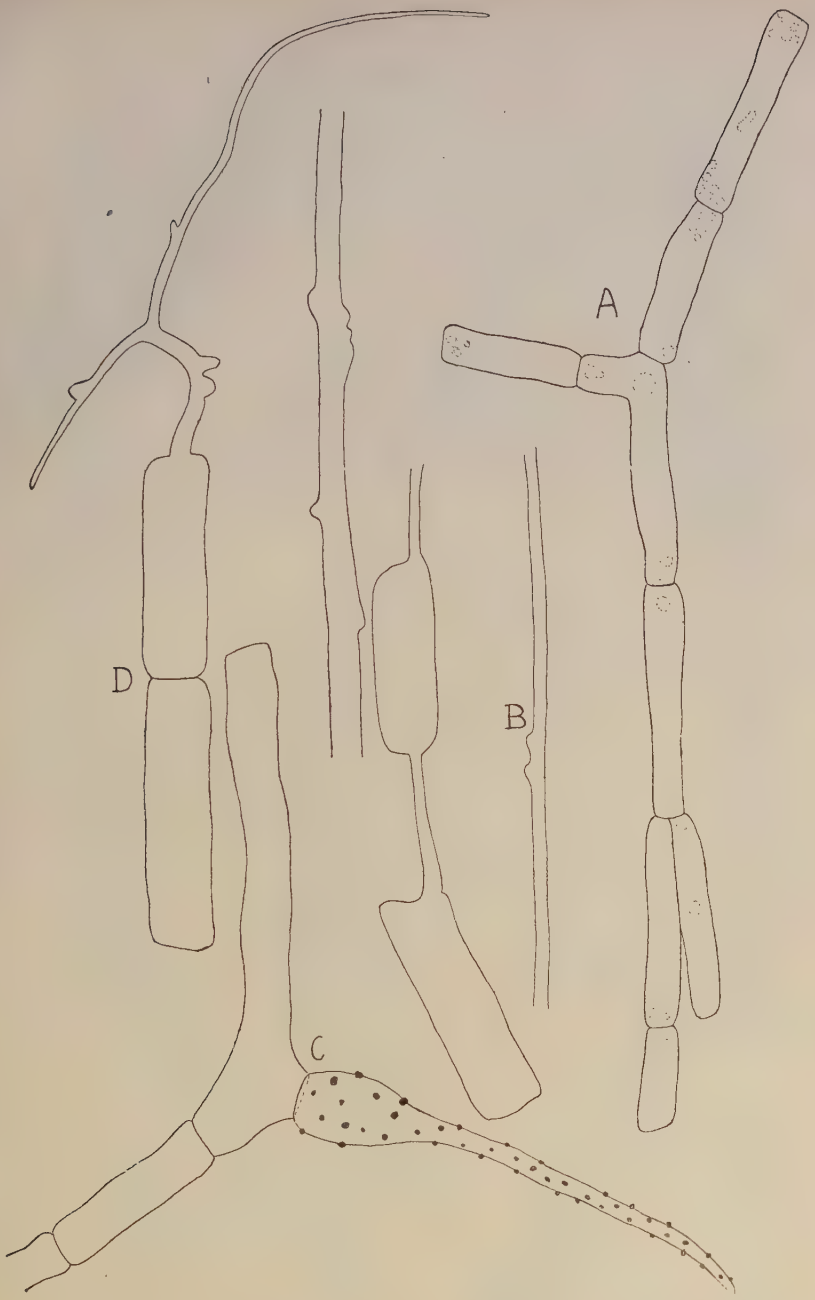


Fig. 1. — Micelio di *Sphaeropsis Ellisii* Sacc., var. *cromogena* G. Goid. ottenuto in cultura su agar-malto. In *A* si vede il tipo di micelio più comune colorato, a contenuto protoplasmatico uniforme con qualche vacuolatura, e a calibro grosso; in *B* il micelio a calibro piccolo, ialino; in *C* una parte di micelio ricoperto di incrostazioni; *D* e le altre non segnate da lettera rappresentano forme di micelio aberrante.

nella parte delle colture sommerse nel substrato, mentre la parte aerea è costituita quasi unicamente dalle ife del tipo per primo descritto. Sempre in coltura, più rado sull'ospite, si osservano ife a conformazione aberranti da quelle ricordate, che sono le normali: e cioè ife con calibro quasi doppio, di un colore assai meno intenso, provviste di grossi vacuoli e di inclusioni oleose; ife con settature frequenti o costituite di elementi rotondeggianti; ife che producono numerose ramificazioni che si intrecciano dando luogo ad elementi che possono fare ricordare l'inizio di uno sclerozio.

Il micelio che ottenni in coltura dai numerosi isolamenti fatti, rimase per lungo tempo sterile nonostante io cercassi con tutti i mezzi di stimolarne la fruttificazione. A tale scopo sperimentai l'uso di substrati varii: quelli artificiali e quelli naturali (legno di pino e di altre piante), l'esposizione a temperature diverse senza ottenere alcun risultato. Rimasi quindi nella convinzione di avere a che fare con un caso di alterazione cromatica del legno prodotta da un fungo sterile; fino a che, in maniera quasi fortuita, ottenni dal micelio la differenziazione dei picnidî della *Sphaeropsis*.

Credo opportuno soffermarmi un poco nel descrivere come avvenne questo fenomeno. Allo scopo di riprodurre sperimentalmente la malattia inoculai parte di coltura del micelio su pezzi di legno sano allestiti nella maniera che verrà esposta dettagliatamente in seguito (v. pag. 467). Dico sin d'ora, però, che per riprodurre, quanto più possibile meglio, le condizioni in cui avviene l'infezione in natura, tali pezzi di legno venivano ricoperti in tutta la loro superficie, tranne che in una delle facce (tangenziale o trasversale a seconda dei casi) con uno strato di paraffina. Dopo un certo periodo di tempo dall'inoculazione (circa 15-20 giorni) mi accorsi che al disotto della paraffina si andavano originando numerosissimi corpicciuoli neri che dapprima potevano essere scambiati per delle formazioni sclerozíali, ma che in seguito

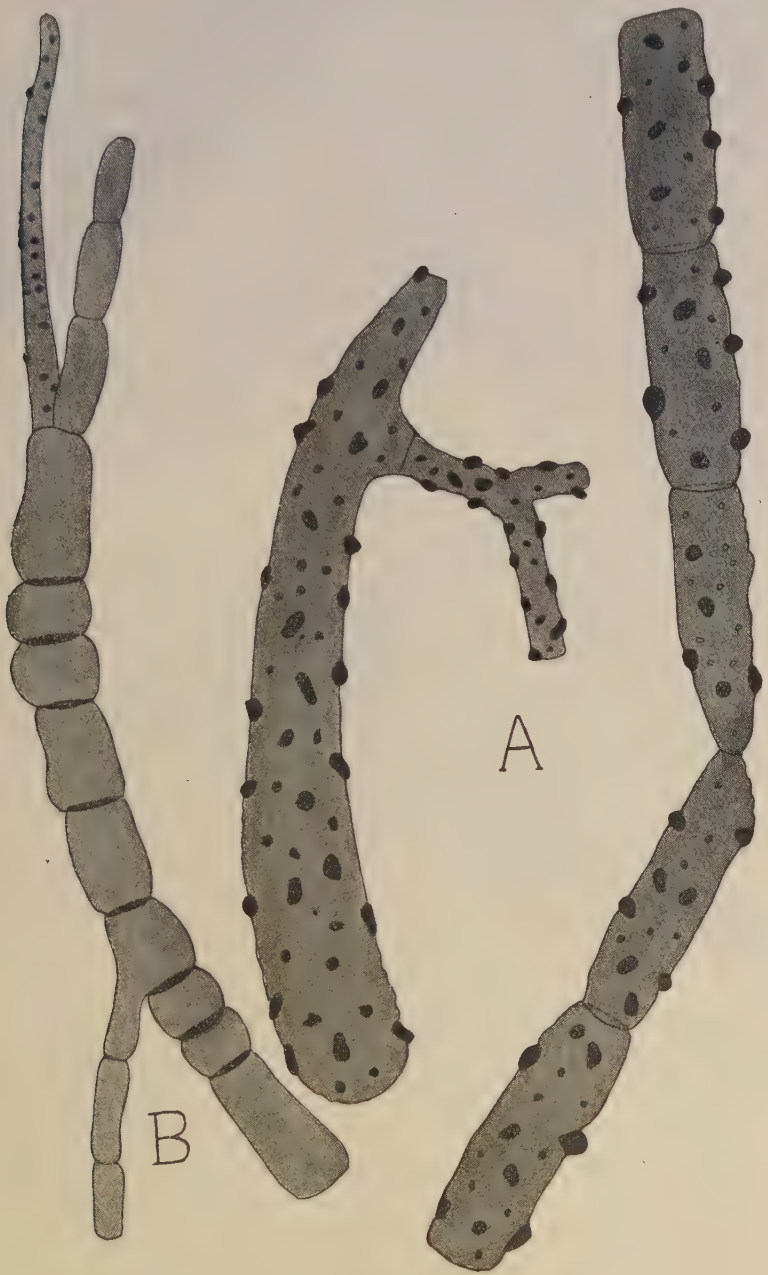


Fig. 2. — Micelio che si riscontra nelle culture vecchie. *A*, ife scure ricoperte di incrostazioni; *B*, ifa costituita di elementi rotondeggianti con le incrostazioni nella sola parte apicale.

si sono mostrati come veri e proprî picnidî. L'esame microscopico mi ha confermato questo, specialmente quando vidi che essi erano ripieni di spore brune continue, caratteristiche del genere *Sphaeropsis* (v. fig. 8).

Fig. 3. — Spora di *Sphaeropsis* germinante, 36 ore dopo la semina La formazione del micelio è abbondante. Nella spora centrale l'emissione del tubo germinativo avviene apicalmente, nell'altra lateralmente.

Stupito di questo fatto, ho ripetuto diverse volte lo esperimento ottenendo sempre i medesimi risultati: non vi fu volta che, usando anche, per le inoculazioni, culture che da mesi e mesi erano sterili, non comparissero i picnidî.

Non vi è dubbio che sia stato il fatto di aver ricoperto il legno con la paraffina che ha indotto la *Sphaeropsis* a fruttificare: ciò è risultato chiaramente dal comportamento del fungo nei legni di controllo, in cui le superficî di taglio non avevano subito alcun trattamento spe-

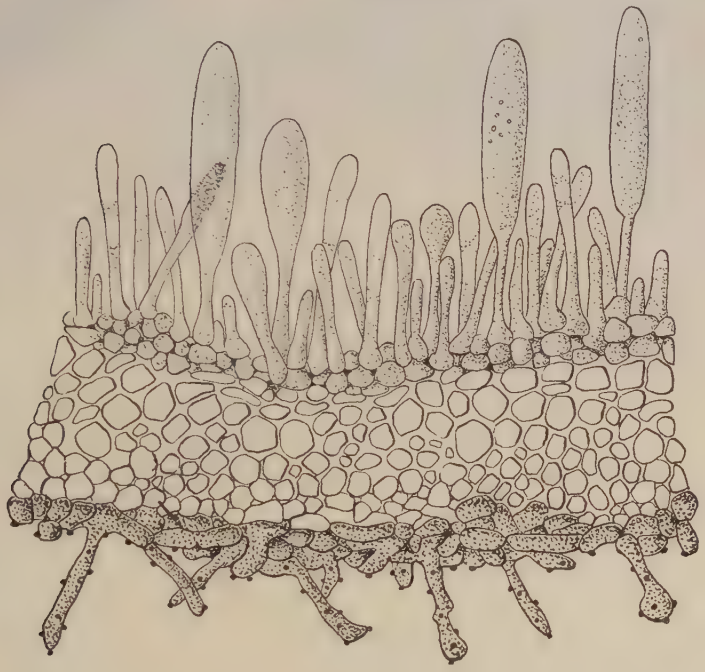


Fig. 4. — Sezione di un picnidio immaturo di *Sphaeropsis*. Sono ben distinguibili i tre strati, gli sporofori, e le spore in via di differenziazione.

ciale, ed anche dall'osservazione che, nei legni imparaffinati, in tutte le parti che volutamente o fortuitamente erano rimaste scoperte, il fungo non produsse alcun picnidio.

Ho voluto poi ricercare se il fenomeno avvenisse solo quando la *Sphaeropsis* cresceva sul legno. Per ciò ho preparato una serie di tubi da cultura contenenti agar-malto, disposto, come si usa di solito, a becco di flauto;

la superficie libera del substrato venne, o totalmente od in parte, ricoperta con paraffina. Anche in questo caso, i picnidî sono comparsi solo nei punti in corrispondenza dei quali la superficie era ricoperta di paraffina. È quindi verosimilmente da escludere l'influenza del substrato nel determinare la sporificazione.

A che allora va attribuito il fenomeno? Non credo si debba pensare ad una azione diretta di natura chimica della paraffina sul fungo, perchè il micelio non mostra di utilizzarla quale sorgente di nutrizione, ed i picnidî non si formano su di essa, ma sul substrato sottostante ai punti in cui fuoriescono. Ritengo piuttosto che la presenza dello strato di paraffina agisca meccanicamente, forse anche nel determinare speciali modificazioni di ordine chimico alle quali la composizione della paraffina stessa non partecipa.

È ben noto a tutti coloro che si dedicano allo studio dei funghi, che questi organismi quando siano allevati in coltura artificiale, mostrano di possedere un comportamento assai capriccioso, che molto spesso sfugge a

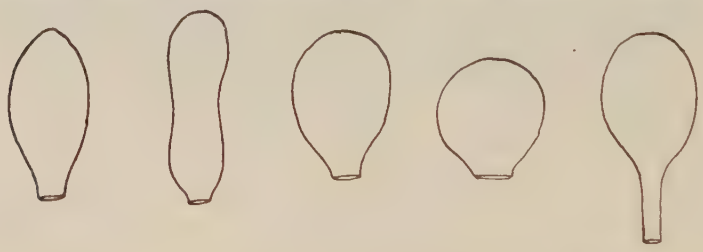


Fig. 5. — Varie forme di spore aberranti di *Sphaeropsis*.

qualsiasi regola o norma. Tralasciamo di parlare di quei miceti che rifiutano di crescere nelle condizioni della coltura artificiale, si sa che ve ne sono molti altri nei quali, sia per l'accrescimento vegetativo, sia, e specialmente, per la fruttificazione, mostrano grandi variazioni dal comportamento in natura.

Naturalmente un tale argomento, specialmente per l'importanza che esso riveste quando si tratta di fun-

ghi patogeni per i quali è necessario disporre di colture che riproducano tutte le caratteristiche del fungo, ha attirato su di sè l'attenzione di molti studiosi, e sono abbastanza numerose le ricerche che esistono a questo riguardo.

Fra le altre, esistono anche alcune ricerche che riguardano proprio i fattori che influiscono sulla differenziazione delle fruttificazioni degli sferossidali (1)

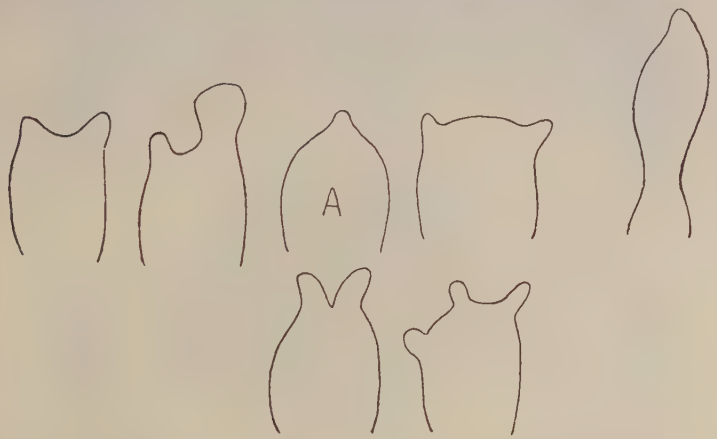


Fig. 6. — Vari tipi di picnidi di *Sphaeropsis*. In *A* si ha il tipo più comune. In corrispondenza delle protuberanze si hanno gli ostioli.

Non è il caso che io mi soffermi quà a discutere i risultati che da esse sono stati ottenuti. Basti solo ricordare che anche in questo caso diversi sono stati i fattori fisici e chimici che, si è potuto constatare, intervengono come determinanti e che, alla stessa maniera di altri fenomeni che si verificano nella coltura dei funghi, anche questo

(1) Cfr. fra gli altri: Coons G. H., *Factors involved in the growth and the pycnidium formation of* Plenodomus fuscumaculans. « Journ. Agr. Res. », 5, 1916, p. 713; Leonian L. H., *A study of factors promoting pycnidia-formation in some sphaeropsidales.* « Amer. Journ. of Bot. », 11,, 1924, pp. 19-50; Mix A. J., *Factors affecting the sporulation of* Phyllosticta solitaria *in artificial culture.* « Phytopath. », 23, 1933, pp. 503-524.

della sporificazione degli sferossidali è legato a diverse cause, alcune delle quali però, tutt'ora di origine oscura e non ben definita.

Che effettivamente l'imparaffinamento dei legni sia stato il fattore che ha indotto la formazione dei picnidî della

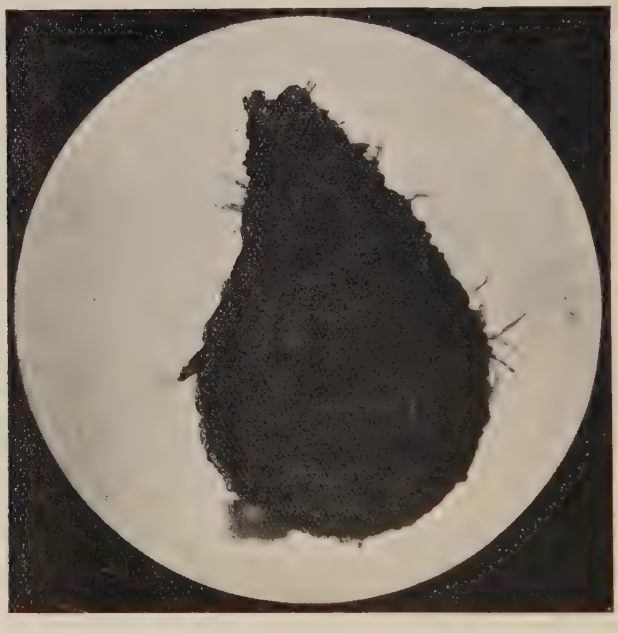


Fig. 7. — Microfotografia di un picnidio di *Sphaeropsis* ottenuta sul legno di pino imparaffinato ed inoculato.

Sphaeropsis Ellisii, *cromogena* è confermato oltre che dalle osservazioni che io ho sopra riportato, anche dal fatto che un fenomeno uguale è stato osservato per un ascomiceta : la *Botryosphaeria berengeriana* De Not. Durante certi studî che faceva su questa specie, il Matz (1) potè osservare che essa (come avevano di già riscontrato

(1) Matz J., *A method to induce sporulation in cultures of* Botryosphaeria berengeriana. « Phytopath. », 6, 1916, pp. 387-389.

il Grossenbacher e Duggar (1) per la *Botryosphaera ribis*) presentava notevolissime difficoltà a produrre i periteci: le colture anzi allestite su qualsiasi substrato colturale rimanevano sempre sterili. L'A. riuscì ad ottenere i periteci solo quando inoculò il fungo su pezzi di ramo che erano stati rivestiti con paraffina. L'opinione dell'A., per spiegare questo fenomeno è che lo strato di paraffina elimina l'ambiente umido che esiste intorno al legno: e questa particolare condizione di ambiente fa sì che venga meno l'accrescimento del micelio aereo, mentre d'altro canto è favorito lo sviluppo delle fruttificazioni. Non so se sia realmente sufficiente la considerazione di questo unico elemento quale determinante: è possibile infatti anche altri, come la sovraproduzione di anidride carbonica, la mancanza di ossigeno ecc., possano intervenire se non come fattori ad azione prevalente su quella che ritiene il Matz, per lo meno ad azione ad essa concomitante (2).

Altra caratteristica da rilevare a questo proposito è che le colture, fatte partendo dalle spore dei picnidî di *Sphaeropsis* ottenuti, nella maniera suaccennata, hanno continuato a produrre sempre nuovi picnidî, qualunque fosse il substrato in cui venivano seminate. Ciò fa ritenere che molti funghi abbiano bisogno di un determinato stimolo che l'induca alla sporificazione: la quale, una volta iniziatasi, prosegue poi ininterrottamente. È probabile che sia appunto la riproduzione di questo stimolo (che deve

(1) Grossenbacher J. G. and Duggar B. M., *A contribution to the life-hystory, parasitism, and biology of* Botryosphaeria ribis. » New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. », 18, 1911.

(2) Per spiegare la natura di questo fenomeno sarà necessario eseguire una serie di ricerche in cui si può cercare di vedere ad es. i risultati che si ottengono sostituendo alla paraffina, altre sostanze inerti come collodio, un foglio di carta stagnola, od una lastra di vetro nel ricoprimento delle culture, e l'azione di un aumento artificiale di anidride carbonica o di una diminuzione di ossigeno su culture non rivestite da alcuna sostanza.

avvenire comunemente in natura) che noi non sappiamo eseguire, nei casi in cui falliscono i nostri tentativi di far fruttificare i funghi che coltiviamo.

Fig. 8. — Altra microfotografia di un picnidio di *Sphaeropsis* emettente le picnospore in vario grado di maturazione.

Le spore germinano assai facilmente. Il tubo germinativo fuoriesce rompendo la doppia membrana della spora, sia apicalmente che lateralmente, e si accresce in maniera straordinariamente rapida. Nella fig. 3 è riprodotta una picnospora germinante 36 ore dopo la semina: si vede la grande abbondanza di micelio che essa ha prodotto. Il micelio che si origina dalla spora è scarsamente settato, ricco di contenuto protoplasmatico, ad andamento tortuoso e fortemente ramificato. Molto spesso queste ramificazioni presentano una strozzatura nel punto di fuoriuscita dal ramo principale (v. fig. 3).

I picnidî posseggono una robusta parete (1) rivestita all'esterno di ife più o meno lunghe che conferiscono al corpo fruttifero un aspetto glabro. La parete è formata

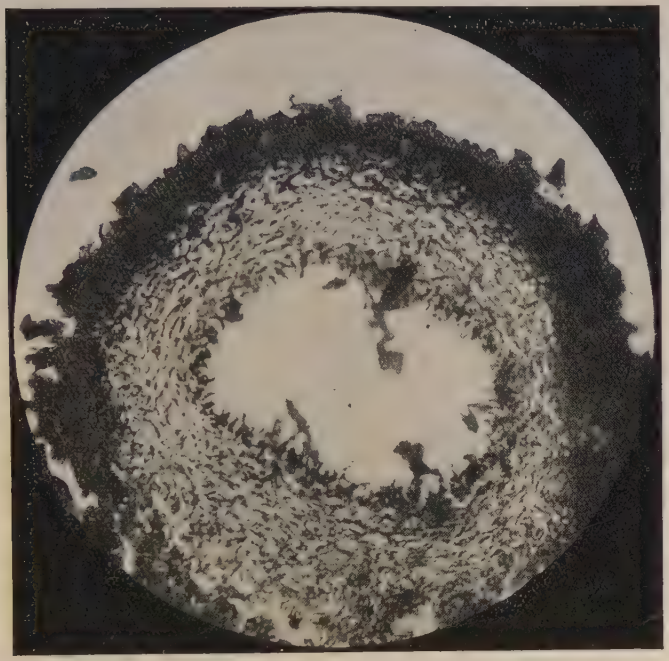


Fig. 9. — Microfotografia della sezione di un picnidio monoloculare di *Sphaeropsis* già maturo. Fissaggio col liquido di Gilson, colorazione ematossilina-safranina.

di tre strati: l'esterno di color nero-carbonaceo costituito di grosse ife tra loro intrecciantisi. Le più esterne sono rivestite di incrostazioni di ossalato di calcio eguali a quelle che si osservano e che sono state descritte per il micelio (v. pag. 444). Il micelio che è anche il più esteso, è formato di cellule quasi prive di contenuto protoplasmatico, ialine, a parete abbastanza grossa. Il

(1) Cfr. Diedicke H., *Die braunsporige Sphaeropsideen.* « Ann. Myc », 11, 1913, pp. 44-53.

terzo, l'interno è costituito di cellule ialine, ricchissime di contenuto protoplasmatico, fra di loro molto compresse e rotondeggianti; su queste ultime sono inseriti gli sporofori al cui apice si differenziano le picnospore (vedi fig. 4).

Fig. 10. — Microfotografia come fig. 9: picnidio biloculare.

La formazione delle spore avviene per gradi: la parte apicale dello sporoforo dapprima si rigonfia sempre rimanendo ialina, fino a raggiungere man mano le dimensioni della spora: a tal momento inizia a cambiare di colore fino a raggiungere quello caratteristico delle picnospore mature. Queste sono di forma cilindrica-ovale, provviste sempre nella parte basale di una superficie piatta che segna il punto d'inserzione della spora stessa sull'apice dello sporoforo. Le spore che si osservano nei picnidî cresciuti non nel legno, ma su substrati artificiali possono presentare diverse forme aberranti da quella normale.

Alcuni esempi di queste spore aberranti sono riprodotti nella fig. 5. Le spore osservate nei picnidî formantisi in natura presentano talvolta un vacuolo centrale.

La forma dei picnidî può essere varia: la più comune è quella conica, con i lati convessi, ed appuntita all'apice dove si trova l'ostiolo, che si vede nelle figg. 6, *A*; 7; le altre forme della fig. 6 sono meno frequenti.

Varia pure è la struttura interna dei picnidî, che ho potuto studiare eseguendo delle sezioni di picnidî opportunamente fissati ed imparaffinati. Sono essi infatti uni- o biloculari. La fig. 9 è la riproduzione di un picnidio uniloculare, la fig. 10 di uno biloculare.

I picnidî crescono direttamente sul substrato, non sono cioè provvisti di stroma, e sono isolati. I pochi che io ho potuto osservare in natura, sul legno ammalato, fuoriuscivano in corrispondenza dell'affioramento all'esterno dei raggi midollari. In genere le spore rimangono racchiuse nell'interno del picnidio; solo quando l'ambiente è molto umido esse sono emesse dall'ostiolo sotto forma di una specie di cirro, e si fermano all'apice formando un grumo più o meno grosso.

Sistematica del parassita.

I funghi che posseggono caratteristiche sistematiche eguali a quelle che ho ora descritto, appartengono al genere di sferossidali *Sphaeropsis* Lév. Diverse specie di questo genere sono specifiche delle conifere o, per lo meno, sono state riscontrate anche sulle conifere. Fra esse posso ad esempio ricordare la *Sphaer. acicola* Pass., *Sphaer. juniperi* Peck., la *Sphaer. pinastri* (Lév.) Sacc., *Sphaer. taxi* (Schw.) Berck., la *Sphaer. Puttermansii* P. Henn., *Sphaer. necatrix* Petri et Adani, la *Sphaer. Ellisii* Sacc.

Il fungo cromogeno riscontrato sul legno di pino si avvicina maggiormente alla specie *Ellisii,* in cui credo opportuno includerlo. Dalla diagnosi che più sotto ri-

porto di esso, risulta però chiaramente che neppure con la *Sphaer. Ellisii* è perfettamente concordante, ma anzi, specialmente per alcune particolarità, se ne discosta alquanto. Ciò nonostante non ho creduto fosse il caso di istituire una specie nuova: e questo perchè la *Sphaer. Ellisii* si è dimostrata in seguito a varie ricerche di essere una specie che possiede forti variazioni (1), sì che può comprendere anche una forma che, come la mia, si discosti notevolmente dal tipo. In considerazione della sua capacità cromogena, indico il fungo del legno di pino col nome di *Sphaeropsis Ellisii*, var. *cromogena* G. Goid. *var. n.* che accompagno con la seguente diagnosi:

Sphaeropsis Ellisii Sacc., var. *cromogena* G. Goid. *var. n.*

Mycelio in lignum penetrante atque maculas brunneas-virides vel poene nigras inducente; hyphis initio albis postea obscuris parce saeptatis et ramosis, aliquandiu crustaceis; picnidis atris, sparsis, superficialibus, forma variabile, vulgo hemisphaerico – conoideis, apice papillatis et poro distincto pertusis, praecipue 400-450 × 300-420 μ, contextu parenchymatico, uni- vel bilocularibus pilis nigris rigidiusculis laxe vestitis sporulis oblongo-ellipticis, basi attenuato-truncatis, raro vacuolo centrali praeditis, atro-brunneis, 39-48 × 12-15 μ levibus; sporoforis simplicibus, hyalinis 15-21 × 5-6 μ.

Hab. *in ligno* Pini silvestris *L., in silvis dictis* « Castel Fusano » *et* « Castel Porziano » *prope Romam.* Italiae, anno 1934-1935.

Descrizione della malattia.

Caratteri esterni. — Il legno attaccato dalla *Sphaeropsis* si distingue agevolmente, perchè presenta una forte colorazione verde-cupo fino a nera. Come ho già detto nelle prime pagine di questo lavoro la distribuzione della

(1) Sono note della *Sphaeropsis Ellisii* le varietà: *abietis*, Fantr., *laricis* Teck., *Pseudotsugae* Petri.

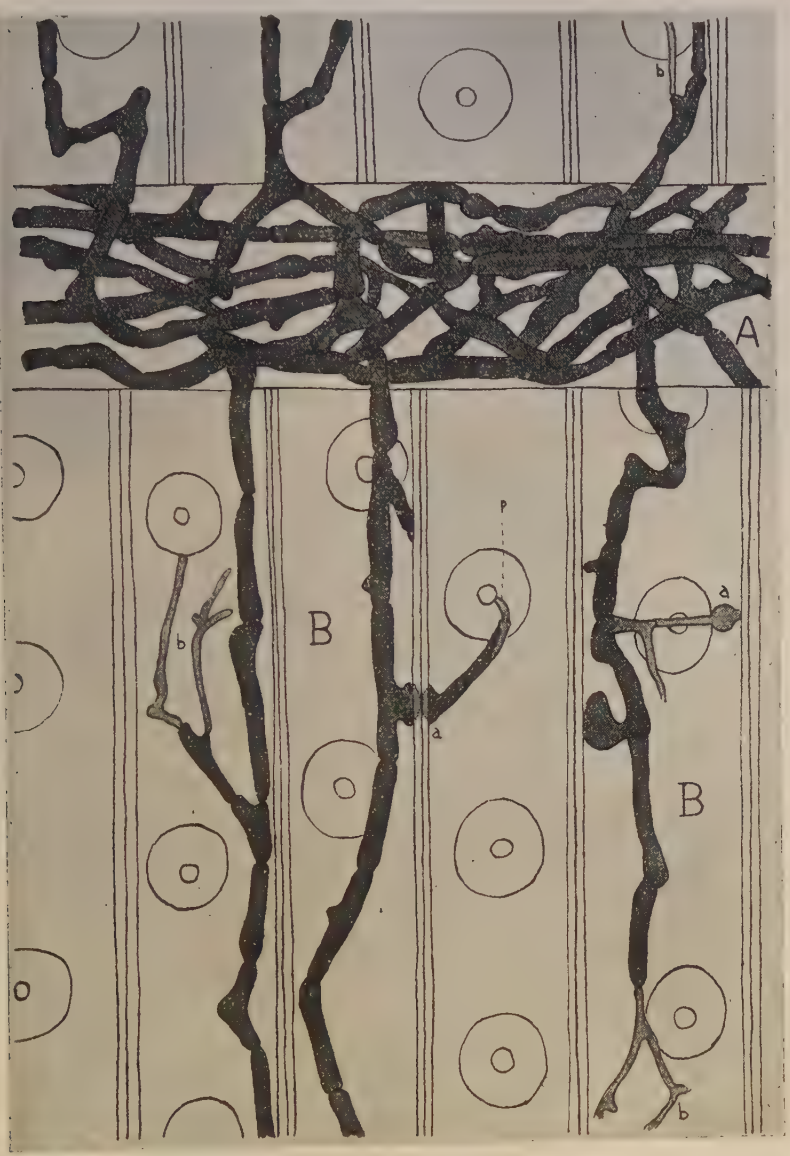


Fig. 11. — Sezione longitudinale di tessuto legnoso di pino attaccato dalla *Sphaeropsis*. In *A*, raggio midollare, in *B* tracheidi; in *a* rigonfiamenti del micelio in vicinanza del punto di perforazione della membrana; in *b* parti di micelio sottile, non molto colorato.

colorazione non è uniforme: è facile anzi osservare nei legni ammalati delle zone in cui il tessuto legnoso conserva la sua struttura normale. In genere le parti sane sono framezzate a quelle ammalate sotto forma di settore, mai a chiazze. I settori hanno la parte di più stretta verso il centro del ramo o del tronco, e si espandono verso l'esterno (v. Tav. I). Nei legni colorati, esaminati dopo la stagionatura, la colorazione è più intensa di quella osservata in alberi ancora in vita (v. avanti a pag. 465) o da poco tagliati. La ragione di ciò, io credo stia nel fatto che in seguito alla lunga permanenza del legno nel luogo dove ha subito l'infezione della *Sphaeropsis*, anche altri fattori od addirittura anche altri funghi intervengono a determinare l'alterazione cromatica. Nelle colture che feci infatti dai primi pezzi di tronco che prelevai nella segheria di Roma, ho potuto osservare la presenza di un poco di micelio diverso da quello della *Sphaeropsis*, ed a cui dovevano appartenere certe fruttificazioni di uno sferossidale stromatico a spore allantoidee che in certi casi (e sempre in piccola quantità) sono comparse nei legni imparaffinati. Non essendomi stato possibile però isolare questo fungo, non posso dire se si tratta di un vero parassita cromogeno o più semplicemente di saprofita commensale della *Sphaeropsis*.

Caratteri interni. — La colorazione nera che assume il legno di pino colpito dalla *Sphaeropsis* è dovuta alla grande quantità di micelio di questo fungo che si trova nell'interno dei tessuti legnosi. Come si vede nelle figg. 11-15 il micelio è localizzato nella massima parte nell'interno dei raggi midollari e nei canali resiniferi, mentre assai scarsamente si diffonde esso nelle tracheidi, e sempre soltanto in quelle che si trovano più vicine ai raggi midollari. Le sezioni quindi del legno ammalato, osservate a piccolo ingrandimento, mostrano delle marcate striature nere leggermente degradanti di colore, verso il centro dello spazio interadiale.

Il decorso delle ife nell'interno dei tessuti, è molto intricato per quelle localizzate nei raggi; mentre nelle tracheidi le ife hanno un decorso semplice, flessuoso (vedi figg 11-15).

Il micelio della *Sphaeropsis,* come quello degli altri funghi cromogeni, non utilizza quale sorgente di nutrimento le membrane delle cellule, ma unicamente il contenuto delle cellule stesse. Per ciò la struttura anatomica dei tessuti ammalati non è alterata; oppure lo è in minima parte. Solo nei raggi midollari, in conseguenza del forte ammasso di micelio ivi esistente, talvolta non si distinguono più le membrane delle cellule che li costituiscono (vedi figg. 11, 12).

Fig. 12. — Microfotografia di tessuto legnoso come in fig. 11.

Il micelio non mostra di possedere, se non in minimo grado, la capacità di forare le membrane cellulari per passare da una cellula all'altra. A tale scopo utilizza quasi unicamente le punteggiature areolate, caratteristiche del legno di coni-

fera (v. figg. 11, 12). Molto spesso il micelio, prima di attraversare le punteggiature, forma delle specie di rigonfiamenti che si possono interpretare come appressorî e che si vedono bene nella fig. 11.

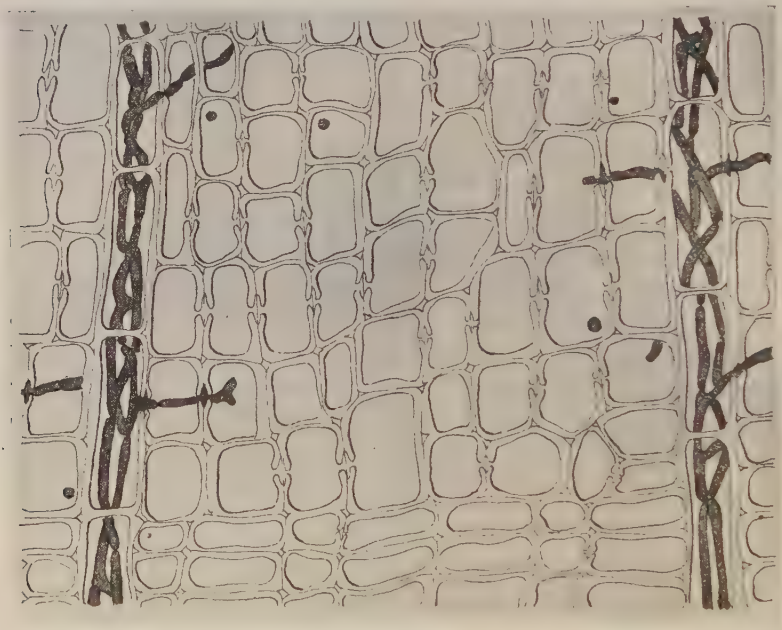


Fig. 13. — Sezione trasversale di tessuto legnoso di pino staccato dalla *Sphaeropsis*. La sezione è fatta a cavallo di un cerchio annuale di accrescimento. Si vede chiaramente che il micelio si trova nella massima parte nell'interno dei raggi midollari e molto poco nelle tracheidi.

Ho già detto che, come nelle colture artificiali, anche nell'ospite, si possono osservare varî tipi di ife; comunemente si hanno quelli rappresentati nella fig. 1, e cioè le ife color marrone e nero a contenuto protoplasmatico uniforme ed a superficie regolare e quelle ialine, ad andamento tortuoso.

Nel punto in cui i raggi midollari affiorano all'esterno, il micelio in essi contenuto può dar luogo a dei piccoli ammassi stromatici che in certi casi differenziano i picnidî.

Biologia del parassita.

Una delle caratteristiche più salienti rilevate nella biologia della *Sphaeropsis Ellisii*, var. *cromogena* è la capacità che questo fungo possiede di aggredire il legno delle piante ancora in vita. Io ho osservato tale

Fig. 14. — Microfotografia di un tessuto legnoso come in fig. 13.

fatto in alcune piante di pino viventi nella pineta di Castel Fusano. In questa pineta è applicata su larga scala la pratica dell'*incassamento* che consiste nel circondare l'apparato radicale delle piante (anche di quelle non più giovani) con una specie di cassa di legno per rendere possibile il loro trasporto in altri punti dove il bosco è meno fitto od in località (specialmente nella

città di Roma) dove si vogliono piantare pini per ornamento. Con l'esecuzione di tale pratica le piante subiscono necessariamente delle lesioni ed asportazioni anche di grosse radici, e ciò porta di conseguenza uno stato di crisi nella vitalità della pianta stessa.

Avviene allora che insetti xilofagi, quali il *Blastophagus piniperda* L., che invadono con ogni facilità le piante per qualsiasi ragione indebolite, producano in esse, con l'escavazione delle loro gallerie, ferite che mettono in scoperto i tessuti legnosi della pianta (1) in cui la *Sphaeropsis Ellisii*, var. *cromogena*, trova il suo ambiente di vita. I germi del fungo giunti in qualsiasi modo a contatto di queste ferite (sia ad opera del vento, o di altri agenti di trasmissione, oppure portativi dagli insetti stessi) possono con ogni facilità invadere i tessuti legnosi . E ciò perchè il taglio delle grosse radici col diminuire fortemente il contenuto acqueo e, rispettivamente, con l'aumentare la quantità di ossigeno disponibile nell'interno delle piante, deve aver fatto sì che si verifichino le condizioni ambientali ottime per lo sviluppo del fungo.

Questa mia osservazione di un fenomeno avvenuto naturalmente, concorda perfettamente con ciò che ottenne in maniera artificiale il Münch (2). Questo A. riuscì a far attaccare dal *Ophiostoma pini* diverse piante di pino a cui aveva tagliato le grosse radici superficiali. Del pari concordanti sono le osservazioni fatte dal Lagerberg, Lundberg e Melin (3) che osservarono un attacco di *Discula pinicola* ed *Ophiostoma caeruleum* su piante di

(1) Le ferite prodotte dagli insetti vengono ancor più aggravate dall'opera del picchio che nel cercare il cibo apre larghi fori nella corteccia.

(2) Münch E., *Die Blaufäule des Nadelholzes.* « Naturwissensch. Ztschr. f. Forst und Landwirtschaft », 5, 1907, pp. 531-573; 6, 1908, pp. 32-47, 297–323.

(3) Lagerberg T., Lundberg G. and Melin E., *Biological and practical researches into blueing in pine and spruce.* « Svenszka Skogsvardsföreningens Tidskr. », 25, 1927, pp. 145-272; 561-739.

abete in cui la vitalità era stata gravemente depressa in seguito ad un incendio verificatosi nella foresta in cui vivevano tali piante.

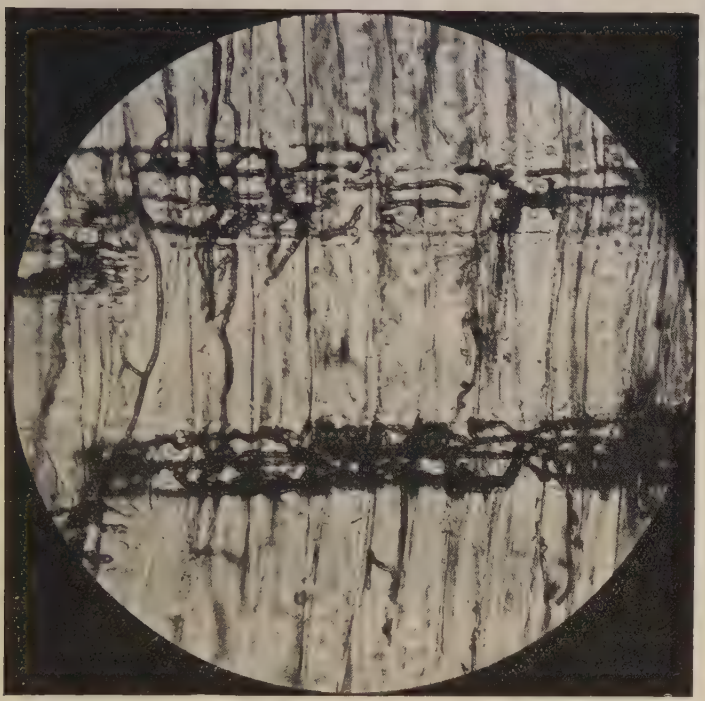


Fig. 15. — Microfotografia di una sezione longitudinale fatta attraverso un tessuto legnoso di pino attaccato da *Sphaeropsis*. La sezione comprende due raggi midollari. Anche qui si vede come questi ultimi siano invasi dalle ife, che sono invece in poca quantità nelle tracheidi.

Lo studio quindi del comportamento biologico della *Sphaeropsis Ellisii, cromogena*, permette di stabilire con certezza che i funghi cromogeni del legno posseggono la capacità di aggredire anche le piante viventi ancora in piedi, quando in esse, per ragioni diverse, si verifichino condizioni che rendano possibile la vita dei funghi. Tale concezione era stata supposta e risultata possibile da os-

servazioni di altri AA., ma non era mai apparsa così chiaramente manifesta come nel caso che io ho ora descritto.

La *Sphaeropsis Ellisii, cromogena* assume, poi, un'importanza fitopatologica anche maggiore considerando che essa deve essere, se non la principale, per lo meno una delle cause che producono le fallanze che si verificano nell'incassamento dei pini. Se si osserva infatti la Tav. 2 riproducente la sezione di un tronco di un pino di 7 anni di età, incassato, e mostrante sintomi di grave deperimento, ma non ancora morto, ci si rende conto facilmente che l'infezione della *Sphaeropsis* non può essere che veramente perniciosa per la vita della pianta già gravemente scossa in conseguenza della pratica a cui era stata assoggettata.

Che l'attacco sia agevolato dalle ferite prodotte dagli insetti, l'ho potuto con certezza constatare con l'esame delle piante che si trovano in uno stato iniziale di deperimento: in esse l'alterazione cromatica aveva inizio appunto in corrispondenza delle gallerie, specialmente di quelle del *Blastophagus piniperda* L. È tutt'altro che nuova la nozione che gli insetti xilofagi siano i diffusori od agevolino la diffusione dei funghi cromogeni. Per i varî esempi che a questo riguardo esistono rimando al mio lavoro che forma il n. 1 della serie degli studî che pubblico su questo argomento.

Riproduzione artificiale della malattia.

Quantunque non vi fosse alcun dubbio sulle capacità cromogene della *Sphaeropsis Ellisii*, var. *cromogena*, dato che dai legni ammalati ne isolavo costantemente il suo micelio, ho voluto tuttavia constatarla mediante prove artificiali di inoculazioni che mi permettessero la riproduzione della malattia. I tentativi fatti sono perfettamente riusciti. La *Sphaeropsis* non solo ha dimostrato di essere capace di colorare il legno, ma di possedere in

alto grado questa caratteristica parassitaria. Il metodo che io ho eseguito per compiere le inoculazioni artificiali è quello consigliato dal Melin (1) e che si è dimostrato perfettamente rispondente allo scopo. I pezzi di legno di pino, destinati alla inoculazione (tagliati in forma di settore, semi-circonferenza, di rettangoli), venivano disposti in grandi scatole di Petri e quindi sterilizzati per circa 48 ore ad una temperatura di 50 C. (la durata di 48 ore per la sterilizzazione può essere continua o, meglio, discontinua) (2).

Come osservava già il Melin, una tale sterilizzazione riesce ad uccidere quasi tutti i germi esistenti nel legno, se non anche dei batterî (la cui presenza del resto non danneggia i risultati) certamente quelli dei funghi; per cui può essere ritenuta come praticamente sufficiente. Durante le prove ben rari sono stati gli inquinamenti osservati, e che io ritengo dovuti a germi penetrati durante l'apertura delle scatole per l'innesto nel legno del micelio della *Sphaeropsis*, piuttosto che a germi rimasti vitali dopo la sterilizzazione. Si trattava in ogni modo di casi sporadici che non disturbavano gran che.

Per riprodurre quanto più possibile fedelmente le condizioni di ambiente naturale ho seguito il procedimento sempre consigliato dal Melin e consistente nell'imparaffinamento delle superficî di taglio dei pezzi di legno, tranne quella tangenziale nel caso volessi sperimentare la capacità della penetrazione radiale-trasversale, o tranne quella trasversale nel caso volessi sperimentare la penetrazione longitudinale. La presenza di paraffina impedisce la penetrazione di aria e l'evaporazione dalle varie facce che essa ricopre, durante l'esecuzione dell'esperienza.

(1) In Lagerberg T., Lundberg G. and Melin E., *Biological et practical researches etc.*

(2) Il vantaggio di una sterilizzazione del legno con una temperatura non troppo elevata, consiste nel far sì che le proprietà chimico-fisiche del legno non vengano notevolmente alterate.

Per ottenere varî gradi di contenuto acqueo (e rispettivamente di ossigeno) nell'interno dei legni sperimentati ho aggiunto acqua nell'interno delle scatole dove essi erano contenuti, o li ho lasciati evaporare a seconda dei casi.

Non sto qui a soffermarmi sulla descrizione del comportamento biologico di questo parassita nei riguardi di fattori come il contenuto acqueo, il contenuto di ossigeno nel legno, della temperatura ottima di sviluppo, ecc. Tali argomenti riguardanti la *Sphaeropsis* e gli altri funghi cromogeni italiani, verranno trattati dal Biraghi nello studio che ha ora in corso.

Mi basti solamente accennare che:

1.°) la malattia si riproduce fedelmente con l'inoculazione artificiale (v. Tav. IV).

2.°) Ha grande influenza sullo sviluppo del fungo la percentuale del contenuto acqueo del legno; con un contenuto uguale a quello delle piante vive la *Sphaeropsis* non può svilupparsi, e la stessa cosa avviene quando il legno è stato disseccato oltre un certo limite.

3.°) La velocità di penetrazione appare essere notevole e certamente non inferiore a quella di altri funghi ritenuti come tipici e più attivi cromogeni.

4.°) La penetrazione può avvenire in senso radiale longitudinale. Si possono perciò osservare le Tavv. III (fig. 2) e IV (fig. 1), che riproducono 2 pezzi di legno in cui sono stati sperimentati i 2 tipi di penetrazione.

5.°) Non ha influenza sulla velocità di penetrazione lo spessore degli anelli di accrescimento annuale: eguale comportamento si ha tanto se il fungo vive sul legno ad anelli frequenti o ad anelli radi.

Danni e mezzi di lotta.

È facile intuire che il legno in cui la presenza della *Sphaeropsis Ellisii*, *cromogena*, abbia indotto una alterazione eguale a quella che è rappresentata nella Tav. I,

sia gravemente danneggiato. Si sa (1) che il danneggiamento dei funghi cromogeni non sta nel fatto che essi alterino in qualche modo le proprietà fisico-meccaniche del legname, ma è dovuto all'aspetto non certo invitante che essi inducono sull'ospite. La *Sphaeropsis* appartiene alla categoria dei funghi più dannosi perchè la colorazione che essa produce è scura, a forte contrasto e quindi assai appariscente.

Ritengo opportuno di tralasciare per ora la trattazione dei possibili mezzi di lotta contro questa malattia. Tale argomento sarà svolto ampiamente, e con maggiori possibilità di addivenire a dei risultati concreti, quando saranno esaurite le varie ricerche che sono in corso sui funghi cromogeni del legno in Italia e sul loro comportamento biologico e parassitario.

GABRIELE GOIDÀNICH.

RIASSUNTO.

Nel lavoro è descritta l'alterazione cromatica che il fungo *Sphaeropsis Ellisii* Sacc., var. *cromogena* G. Goid., induce nel legno di pino. Sono illustrati i caratteri morfologici e culturali del parassita, il suo comportamento sull'ospite ed in natura. Il micelio si trova nella massima parte nell'interno dei raggi midollari e dei canali resiniferi, molto meno invece nelle tracheidi.

Il fungo ha difficoltà a fruttificare in cultura, e soltanto con particolari accorgimenti si possono ottenere i suoi picnidî. Particolare assai rilevante della biologia del parassita, è la capacità che esso possiede di attaccare le piante ancora viventi, in piedi. Il suo ingresso nell'ospite è favorito dagli insetti xilofagi.

(1) Cfr. il mio lavoro: *Le alterazioni cromatiche etc.* I. *Nozioni generali sui funghi cromogeni*, a pagg. 363-388 di questo stesso Bollettino.

La malattia, causata dalla *Sphaeropsis Ellisii, cromogena*, si riproduce fedelmente e facilmente mediante la inoculazione artificiale.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tav. I.

Fotografia di un legno di pino attaccato dalla *Sphaeropsis*. La colorazione non è uniforme in tutta la sezione, conservando alcuni settori l'aspetto normale. Questo piccolo tronco ora invaso dal coleottero *Myelophilus piniperda* L., le cui gallerie si vedono nella parte inferiore della figura.

Tav. II.

Fig. 1. — Parte esterna di un grosso tronco di pino proveniente dalla pineta di Castel Porziano (Roma), attaccato dalla *Sphaeropsis*.

Fig. 2. — Sezione di un tronco di 7 anni di un pino della pineta di Castel Fusano (Roma) attaccato dalla *Sphaeropsis*. La pianta, nonostante gran parte del suo legno fosse, come si vede, fortemente alterata, era ancora in vita. Essa aveva subito la pratica dell'incassamento.

Tav. III.

Figg. 1 e 3. — Due scatole di cultura in cui erano stati seminati pezzi di legno prelevati da tronchi di pino ammalati. Il colore delle colonie è assai intenso; esse non produssero fruttificazioni. Il pezzetto di legno si vede al centro di ogni singola colonia.

Fig. 2. — Settore di legno di pino inoculato con *Sphaeropsis* sulla superficie tangenziale.

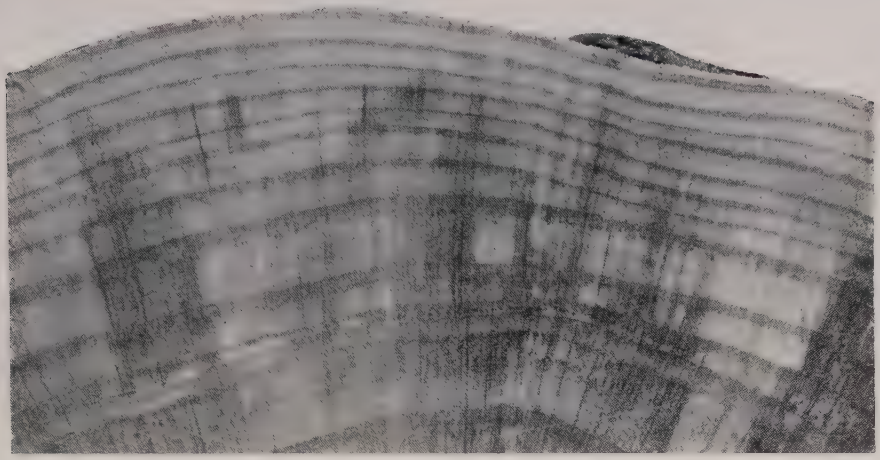
Tav. IV.

Fig. 1. — Legno di pino inoculato con *Sphaeropsis* nella superficie tangenziale per sperimentare la penetrazione radiale-trasversale del fungo.

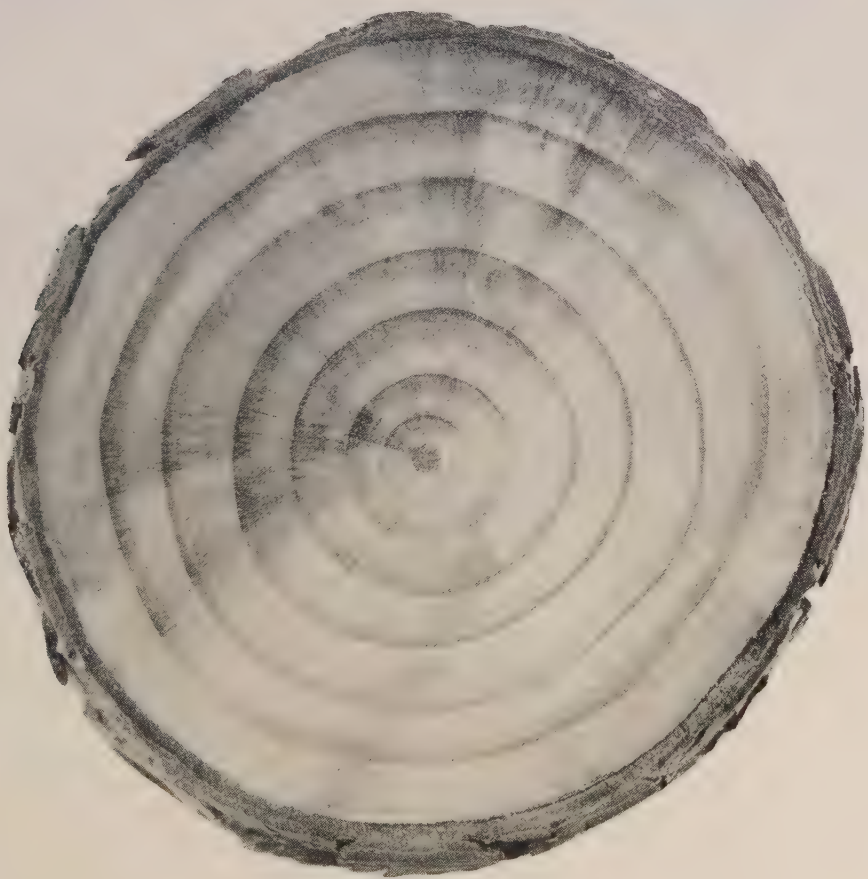
Fig. 2. — Legno di pino come sopra; inoculato nella superficie trasversale per sperimentare la penetrazione longitudinale del fungo. In entrambi i legni si distinguono dei punti scuri dai quali si erano differenziati i picnidi.

L'Aut. fot.

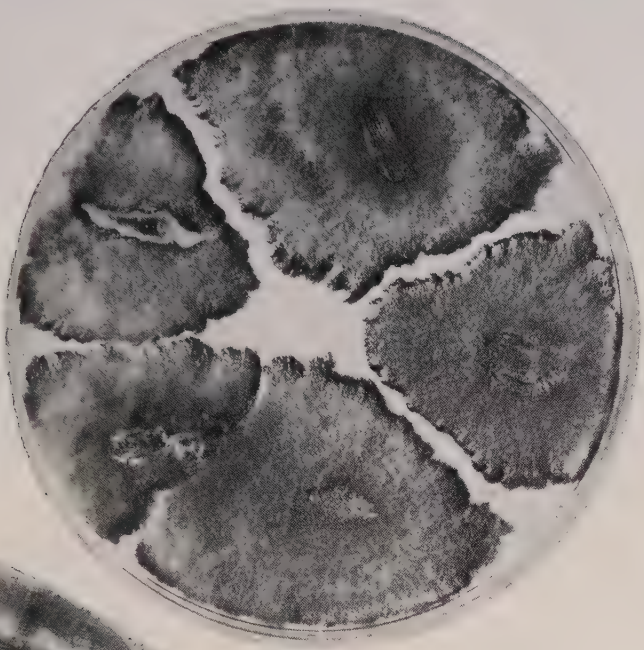
1



2

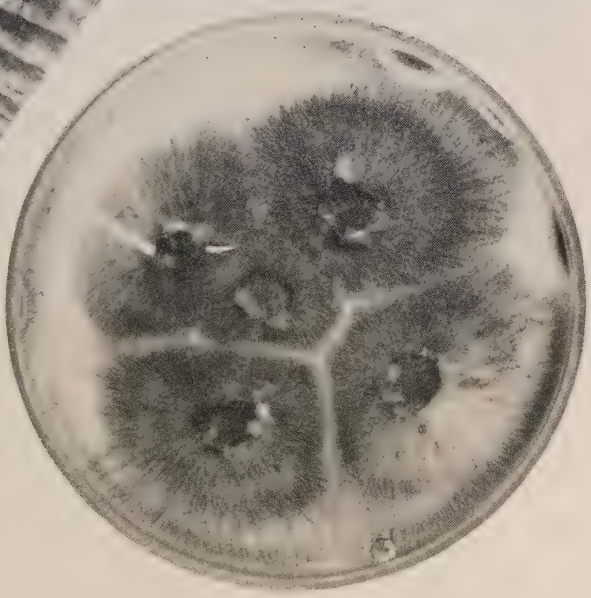


L'Aut. fot.



1

2

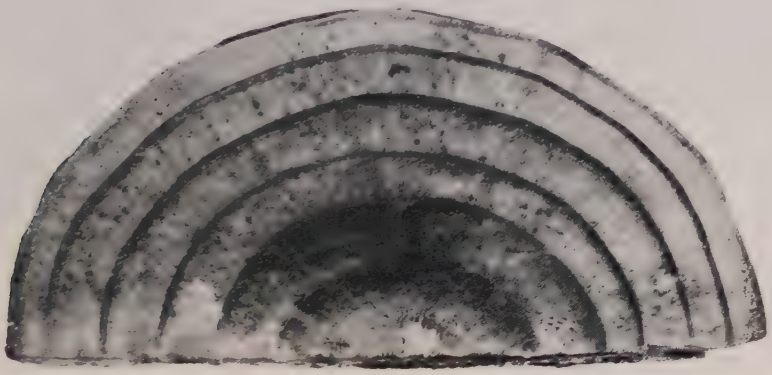


3

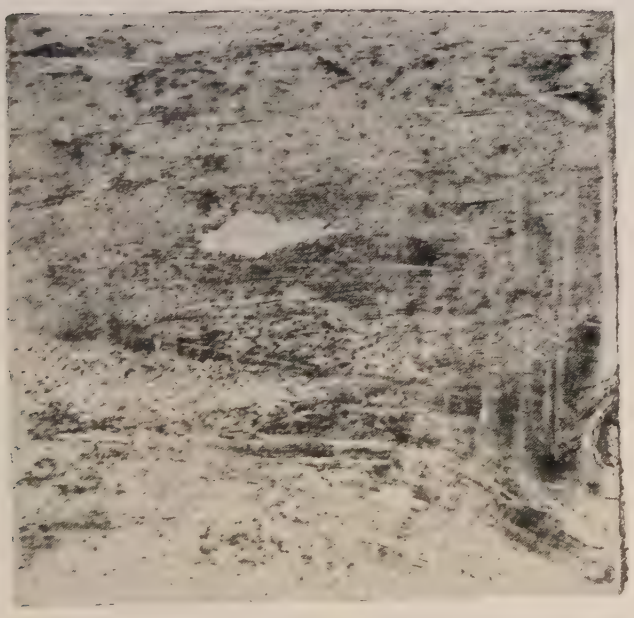
L'Aut. fot.

Goidanich G. — *Le alterazioni cromatiche*, ecc.

1



2



L'Aut. fot.

Ricerche sopra l'influenza del boro sulla resistenza delle piante agli attacchi parassitari

Verso la fine del secolo scorso è stata scoperta in California la presenza dell'acido borico nel vino, ed esperienze intraprese da vari Autori dall'anno 1885 in poi ne hanno confermata l'esistenza nei vini di tutti i paesi. Vista la costante presenza dell'acido borico nel vino è sorta per conseguenza l'ipotesi che questo acido potesse essere presente anche nella vite. Crampton (1) potè infatti dimostrare che l'acido borico è un costituente normale e necessario dei tessuti della vite. Avendo potuto egli in seguito provare l'esistenza dell'acido borico in piante di melo, barbabietola, cocomero e canna da zucchero, ha prospettato l'ipotesi che tale acido si potesse trovare costantemente anche nelle altre piante. La conferma di questa ipotesi è stata data da Callison, il quale nel 1890, dopo aver fatto l'analisi chimica delle ceneri di molti alberi fruttiferi, è giunto alla conclusione che l'acido borico, e per conseguenza il boro, è un costituente assai diffuso nel regno vegetale. Infine Agulhon (1916) riscontrò la presenza dell'acido borico oltre che nelle piante superiori, anche nei funghi, nelle alghe e nelle felci.

Riguardo alla distribuzione del boro nelle piante, dalle ricerche di Brenchley (1914) e di Cook (1916) risulta che essa varia molto a seconda delle diverse piante, e in una medesima pianta, a seconda delle varie parti. Così mentre nelle Leguminose la distribuzione fra la sommità della pianta e le radici risulta più omogenea, nel grano nel pomodoro e nel rafano il boro è concentrato principalmente nella sommità e se ne trovano appena tracce

(1) Citato da Callison.

nelle radici; il fatto contrario si osserva nella patata che a maturità contiene piccole quantità di questo elemento nelle radici e nei tuberi, mentre una quantità relativamente grande ne è contenuta nella parte basale del fusto.

È noto da tempo che la mancanza assoluta o la deficienza di boro nel terreno ha un'influenza molto dannosa sullo sviluppo delle piante. Brandenburg (1931, 1932) ha eseguito accurate ricerche sopra le conseguenze che derivano dalle deficienza di boro sullo sviluppo della barbabietola da zucchero, e ritiene anzi che la « Malattia del cuore » ed il « Marciume secco » della barbabietola da zucchero siano da attribuirsi alla deficienza di boro nel terreno. Questo autore ha ancora trovato che somministrando del boro a colture di barbabietole colpite da queste due malattie, si osserva un notevole miglioramento nelle piante malate, e in alcune circostanze si ottiene la completa scomparsa dei sintomi patologici. Egli ritiene per conseguenza che sia possibile combattere con efficacia il Mal del cuore ed il Marciume secco della barbabietola da zucchero, somministrando al terreno dell'acido borico o dei sali di questo acido. In un lavoro recente Van Schreven (1934) descrive con ampiezza di dati gli effetti dovuti alla deficienza di boro in piante di tabacco, di cui studia le alterazioni anatomiche e fisiologiche. Più tardi (1935) egli fa le stesse osservazioni su piante di pomodoro.

***

Da questi dati risulta che mentre è stata ampiamente trattata la presenza e la distribuzione del boro nelle piante e la sua azione su queste, non sono state ancora intraprese delle ricerche per stabilire quale azione possa avere il boro sulla resistenza delle piante di fronte alle malattie crittogamiche. Il Direttore della R. Stazione di Patologia Vegetale m'ha perciò incaricato di iniziare alcune esperienze d'orientamento sulla eventuale in-

fluenza che potesse avere il boro nel modificare il comportamento delle piante agli attacchi parassitari, e cioè se esso agisca in modo da aumentarne la suscettibilità di fronte alle infezioni o se invece ne esalti la resistenza, e in tale caso determinarne l'importanza pratica.

Le ricerche preliminari descritte in questa nota si riferiscono al comportamento delle piante di grano, trattate con borato di sodio, di fronte alla Ruggine. A questo scopo sono state eseguite delle esperienze in serra colla *Puccinia triticina* Erikss., come pure delle esperienze in aperta campagna, ma poichè in questo caso la *Puccinia triticina* non si è potuta sviluppare sulle foglie di grano che in proporzioni minime, essendo stata soprafatta dall'infezione di *Puccinia glumarum*, ho dovuto fare le mie osservazioni con questa ultima specie di Ruggine.

Esperienze in serra. — Queste esperienze furono eseguite in una serra in cui la temperatura si poteva mantenere costantemente intorno a 20° C. Per la semina ho adottato una varietà di grano molto recettiva alla *Puccinia triticina*, precisamente la varietà americana *Michigan Bronce*, ed ho usato dei vasetti di terracotta aventi un volume di 150 cc., ed una superficie di semina di 37 cmq. Il boro è stato aggiunto alla terra in diverse dosi, per cui sono state sperimentate 6 serie di tre vasi ciascuna, tenendo una di queste serie come controllo. Il borato di sodio è stato somministrato in modo che in ogni serie di vasi la quantità di questo sale raggiungesse il doppio di quella della serie precedente. Il punto di partenza è stata la quantità di 3,7 mgr. per vaso il che, tenendo conto della superficie della terra dei vasetti, corrisponde ad 1 gr. di borato di sodio per 1 mq. di terreno:

Serie n.° 1: Controllo.
» » 2: 3,7 mgr. di borato di sodio (1 gr. per 1 mq.)
» » 3: 7,4 » » » » » (2 gr. » 1 »)
» » 4: 14,8 » » » » » (4 gr. » 1 »)
» » 5: 29,6 » » » » » (8 gr. » 1 »)
» » 6: 59,2 » » » » » (16 gr. » 1 »)

Preparati in questo modo i vasetti ho eseguito la semina del grano in ragione di 10 cariossidi per vaso, ottenendo così 30 piante per ciascuna serie. Quando lo sviluppo delle piantine di grano ebbe raggiunto il grado conveniente, e cioè quando la prima foglia era già sviluppata ma non era ancora spuntata la seconda, ho proceduto alla inoculazione. Per l'inoculazione delle piantine con uredospore di *Puccinia triticina* ho adottato il metodo usuale (Sibilia 1935). Con un batuffolo di ovatta portato da uno stecchino e bagnato con una soluzione acquosa di agar al 0,10% si prelevano le uredospore dalle foglie di piante infette, e quindi si striscia il batuffolo sulla pagina superiore delle foglie che devono essere infettate. Dopo quest'operazione i vasetti vennero posti in un ambiente isolato, per evitare dei possibili inquinamenti, e venivano periodicamente annaffiati per mantenere l'ambiente ad una umidità di 90%.

Durante tutta l'esperienza l'accrescimento delle sei serie di grano è stato normale, e sono state osservate delle differenze appena apprezzabili fra lo sviluppo delle serie trattate con boro e quella di controllo.

Una differenza sensibile è stata invece osservata nell'intensità con cui avveniva l'infezione da parte della *Puccina triticina*. Infatti circa due settimane dopo l'inoculazione delle piante di grano, quando cioè le pustole prodotte dall'infezione erano completamente mature, la determinazione dei tipi d'infezione presentati dalle diverse serie sperimentate, ha dato il seguente risultato:

La serie 1 (controllo) e le serie 2 (3,7 mgr. di borato di sodio per vaso), 3 (7,4 mgr.) e 4 (14 mgr.) presentavano nettamente il *tipo 4* d'infezione, caratterizzato da numerosi uredosori grandi e dall'assenza di macchie di ipersensibilità e di aree clorotiche ben evidenti.

La serie 5 (29,6 mgr. di borato di sodio) presentava un tipo d'infezione vicino al *3*, ma con uredosori più piccoli, quindi un tipo d'infezione intermedio fra il *tipo 3* ed il *tipo 2* (*tipo 3-2*).

Fig. 1. — Foglie di grano infettate con *Puccinia triticina* Erikss. *A*, controllo; *B*, trattamento con 1 gr. di borato di sodio per 1 mq. di terreno; *C*, trattamento con 2 gr. di borato di sodio per 1 mq. *D*, trattamento con 4 gr. di borato di sodio per 1 mq.; *E*, trattamento con 8 gr. di borato di sodio per 1 mq.; *F*, trattamento con 16 gr. di borato di sodio per 1 mq. - Le foglie *A*, *B*, *C* e *D*, presentano nettamente il *tipo d'infezione 4*, la foglia *E* presenta il *tipo d'infezione 3-2* e la foglia *F* presenta il *tipo d'infezione 3*.

La serie 6 (59 mgr. di borato di sodio) presentava distintamente il *tipo 3* d'infezione, con uredosori di media grandezza, circondati da aree clorotiche distinte.

Da queste osservazioni risulta che mentre 3,7 mgr., 7,4 mgr. e 14,8 mgr. di borato di sodio, ciò che corri-

sponde rispettivamente a 1 gr., 2 gr. e 4 gr. di borato sodico per 1 mq. di superficie, non hanno alcuna influenza definita sulla resistenza delle giovani piantine di grano di fronte all'infezione di *Puccinia triticina*, una quantità di borato di sodio pari a 29,5 mgr. e di 59,2 mgr. (8 gr., e 16 gr. per mq.) esercitano un'azione manifestamente benefica rendendo le piante più resistenti alla Ruggine (*P. triticina*), senza però che tale concentrazione sia in alcun modo sfavorevole al normale sviluppo delle piante.

Esperienze in campo. — Visto il risultato dei trattamenti con boro di piante di grano tenute in serra, e tenuto conto che queste erano per conseguenza in condizioni colturali ed ambientali particolari, ho voluto intraprendere pure delle esperienze in campo, per vedere quale azione esercitasse l'aggiunta di boro al terreno, sullo sviluppo delle piante di grano viventi all'aperto in condizioni normali e particolarmente sulla resistenza di queste alla Ruggine. Mentre per le esperienze in serra è stata adottata la *Puccinia triticina* Erikss., nelle esperienze in campo è stato possibile di fare osservazioni attendibili solamente colla *Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss Henn., che in quest'anno si è largamente propagata nelle colture sperimentate.

Dall'ampia bibliografia relativa al boro risulta che sono state eseguite numerose ed esaurienti esperienze per studiare l'azione che il boro esercita sullo sviluppo delle piante. Le ricerche di Haselhoff (1913), Cook (1916), Skinner e Allison (1923), Haas (1929), Mc Montrey (1929) e molti altri hanno dimostrato che somministrando piccole quantità di boro al terreno, si ha un sensibile aumento nello sviluppo delle piante: la quantità optimum di boro varia a seconda delle diverse piante. Superato l'optimum, l'aumento nello sviluppo diventa sempre meno sensibile fino ad un certo limite, oltrepassato il quale l'azione del boro riesce decisamente dannosa. In Italia Cusumano nel 1925 ha condotto uno studio sull'effetto del boro su

piante di lupino, fagiolo, pomodoro, patata, grano e granoturco, sia tenute in vasi, sia coltivate in piena terra. Avendo questo Autore somministrato al terreno del boro, tanto sotto forma di acido borico quanto sotto forma di borato di calcio e di terra boracifera, in diverse quantità corrispondenti rispettivamente a gr. 0,25 di boro per 1 mq., gr. 0,5 di boro per 1 mq. e gr. 1 di boro per 1 mq., ha trovato che la quantità optimum di boro per 1 mq. di terreno è quella di 0,5 gr. Anche Agulhon (1910) in Francia aveva trovato che per alcune piante come il granoturco, la colza, il pisello, trattate con acido borico, la dose optimum di boro è di gr. 0,5 per 1 mq. di terreno, mentre per altre piante che sopportano di meno il boro, questa dose riesce troppo forte. Come è stato anche detto prima, nessuno di questi Autori ha pensato a studiare l'azione del boro sulle piante dal punto di vista della resistenza di queste alle malattie parassitarie. L'unico accenno a questo proposito è fatto dal Hoagland e Snyder nel 1934, i quali studiarono gli effetti che aveva l'aggiunta di alcuni elementi fra cui anche il boro su piante tenute in una soluzione nutritiva normale. Questi Autori, fra l'altro, notarono incidentalmente che le piante di fragola cresciute nei vasi in cui al liquido colturale venne aggiunto del boro o del manganese, rimanevano quasi completamente esenti dagli attacchi della *Sphaerotheca humuli*, mentre le piante tenute nella soluzione nutritiva normale erano fortemente attaccate da questo fungo.

Per le esperienze da me condotte in campo, sono state prese 5 parcelle di terreno lunghe 10 m. e larghe 3,5 m. La prima parcella serviva come controllo mentre le altre quattro subirono il trattamento con borato di sodio in diverse dosi:

Parcella n.° 1. Controllo.
» » 2: 0,5 gr. di borato di sodio per 1 mq.
» » 3: 1 » » » » » » 1 »
» » 4: 2 » » » » » » 1 »
» » 5: 5 » » » » » » 1 »

Le cinque parcelle sono state regolarmente concimate e lavorate ed in ciascuna di esse sono stati seminati 400 gr. di grano *Mentana*; è stata scelta questa varietà precoce di grano perchè la semina è stata fatta in marzo.

Le condizioni atmosferiche durante lo sviluppo delle piante si sono mantenute quanto mai sfavorevoli, poichè venti molto forti e bruschi abbassamenti di temperatura hanno danneggiato fortemente le colture. Gli abbassamenti di temperatura hanno favorito in modo particolare la diffusione della *P. glumarum*, per cui si sono avute solo lievi tracce d'infezione da parte della *P. triticina*.

La parcella di controllo ha anche sofferto una fortissima infezione di *Puccinia glumarum*, che ha danneggiato considerevolmente le piante. Il peso netto delle cariossidi di questa parcella è stato di 700 gr. Il peso specifico pure si è mostrato basso, infatti ripetute determinazioni hanno sempre dato come valore 67. Il valore della germinabilità di queste cariossidi, com'è risultato dalle prove in germinatoio, si manteneva intorno al 93%.

Nella parcella n. 2, in cui vennero somministrati gr. 0,5 di borato sodico per 1 mq. di terreno, è stato osservato un accrescimento più rigoglioso che nella parcella di controllo, e l'infezione da parte della *Puccinia glumarum* è stata alquanto più lieve. Come conseguenza di ciò si è verificato un miglioramento nella qualità e un aumento nella quantità del prodotto. In questa parcella il peso netto delle cariossidi è stato di 1900 gr., il peso specifico ha raggiunto il valore di 71, e la percentuale di germinabilità delle cariossidi è stata del 99%.

Nella parcella n. 3 (1 gr. di borato di sodio per 1 mq.) si è osservato uno sviluppo più rigoglioso che nella parcella n. 2; l'infezione di Ruggine è stata però presso a poco della medesima entità che nella parcella precedente. Il prodotto della parcella n. 3 è stato alquanto inferiore a quello della parcella n. 2 però maggiore di quello della parcella di controllo. Il peso delle cariossidi

è stato di 1550 gr., il peso specifico di 70, e il valore della germinabilità del 97%.

La parcella n. 4 ha dimostrato uno sviluppo delle piante maggiore di quello della parcella n. 3, l'intensità dell'infezione di ruggine è stata sensibilmente uguale a quella delle parcelle trattate precedenti. Il peso netto del prodotto è stato di 1445 gr., il peso specifico di 69 ed il valore della germinabilità del 96%.

Nella parcella n. 5 (5 gr. di borato di sodio per 1 mq.) è stato osservato uno sviluppo identico a quello della parcella precedente e pure l'intensità dell'infezione che si è mostrata è stata presso a poco uguale. Il prodotto era però diminuito rispetto a quello della parcella n. 4, infatti il suo peso netto è stato di 1250 gr., il peso specifico 68,5, e la germinabilità del 96%.

I dati raccolti in queste esperienze nelle diverse parcelle osservate sono riassunti nella seguente tabella:

Parcella	Borato di sodio per 1 mq. di superficie	Peso del prodotto	Peso specifico del grano	Germinabilità delle cariossidi	Entità dell'infezione
n.° 1	Controllo	700 gr.	67	93 %	Fortissima
» 2	0,5 gr.	1900 »	71	99 »	Alquanto più lieve
» 3	1 gr.	1550 »	70	97 »	
» 4	2 gr.	1445 »	69	96 »	
» 5	5 gr.	1250 »	68,5	96 »	

Da queste esperienze condotte in aperta campagna, con i metodi usuali di coltivazione, si possono trarre alcune conclusioni che hanno un certo valore anche per il lato pratico. La tabella sopra riportata mette chiaramente in evidenza l'azione che esercita il boro, somministrato sotto forma di borato di sodio al terreno, sulla vegetazione del grano e l'influenza che sembra avere questo composto sulla resistenza del grano alla *Puccinia*

glumarum. Infatti innanzi a tutto si è potuto osservare che, concordemente alle affermazioni dei vari Autori, l'aggiunta di boro (borato di sodio) al terreno ha avuto un'influenza benefica sulla vegetazione delle piante di grano sperimentate, in seguito alla quale le parcelle trattate con boro hanno dato un prodotto più cospicuo, con peso specifico più elevato e con una percentuale di germinabilità più alta che nella parcella di controllo.

In queste prove la dose optimum di borato di sodio somministrata al terreno è stata di 0,5 gr. per 1 mq. Infatti nella parcella n. 2 si è avuto un prodotto maggiore che in tutte le altre e precisamente di 1900 gr., un peso specifico più elevato 71, e una percentuale di germinabilità 99%. Nelle altre parcelle in cui è stato somministrato il borato di sodio in ragione di 1, gr. 2, gr. 5 per 1 mq. di superficie si è notata una diminuzione graduale nel peso del prodotto, e nel valore del peso specifico e della germinabilità. Riassumendo si può dire che in tutte le parcelle trattate con boro, da 0,5 gr. di borato di sodio per 1 mq. a 5 gr. di borato per 1 mq., il peso del prodotto, il valore del peso specifico e quello della germinabilità sono sempre stati decisamente superiori che nella parcella di controllo. Questi valori sono tutt'altro che assoluti : l'enorme differenza dello sviluppo fra la parcella di controllo e le parcelle trattate con boro può essere stata fino ad un certo punto influenzata anche dall'azione del vento, poichè data la direzione del vento la parcella di controllo è stata quella che ha subito i danni più ingenti. È tuttavia fuori d'ogni discussione che il borato di sodio ha dimostrato di esercitare un'azione stimolante sullo sviluppo delle piante di grano.

In queste esperienze condotte in campo, nelle parcelle trattate si è notata una diminuzione nell'intensità dell'infezione da parte della *Puccinia glumarum*, per quanto, date anche le dosi minori di borato di sodio somministrate, questa diminuzione nell'intensità dell'infezione sia stata meno evidente che nelle esperienze in serra.

Concludendo si può dire che dalle esperienze, sia condotte in serra colla *Puccinia triticina* Erikss. sia eseguite in aperta campagna colla *Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss. et Henn. è risultato che il boro somministrato sotto forma di borato di sodio, ha dimostrato di avere un'azione tale da diminuire la recettività delle piante di grano per la *Puccinia triticina* e per la *Puccinia glumarum*. Il boro quindi, oltre che avere un'influenza benefica sullo sviluppo delle piante sembra che possa renderle, fino ad un certo punto, più resistenti di fronte ad alcuni parassiti vegetali.

Ho creduto d'un certo interesse esporre i dati ottenuti in queste esperienze, che però hanno puramente un indirizzo d'orientamento, ed hanno quindi bisogno di ulteriore riconferma. Mi riservo in seguito di comunicare i dati di altre esperienze su vasta scala che mi propongo d'intraprendere per poter riferire in modo esauriente sopra l'azione del boro ed eventualmente di altri elementi sulla resistenza delle piante di fronte alle malattie crittogamiche.

R. Gigante.

SUMMARY.

Researches have been made on wheat grown in pots and kept in greenhouse and also on wheat in open field to test the action of boron on the plants especially in regard to their resistance to cryptogamic diseases. The parasite tested in the greenhouse has been *Puccinia triticina* Erikss. Adding different doses of sodium borate to the pots in the proportion of gr. 1, gr. 2, gr. 4, gr. 8, and gr. 16 for sqm.; its has been observed that whilst in the control pots and in those with gr. 1, gr. 2, gr. 4 of sodium borate for sqm. the infection has been very serious, of the *type 4;* in the pots with gr. 8 of sodium borate for sqm. the infection was of a type between

type 3 and *type 2;* in the pots with gr. 16 of sodium borate for sqm. the infection was clearly of *type 3*. The tests made on the field with *Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss. et Henn. have shown that sodium borate added in the proportion of gr. 0,5 gr. 1, gr. 2 and gr. 5 for sqm. has lowered the intensity of the infection in comparison with those of the control plots. From these researches it appears that boron beside hawing a stimulating effect on the development of wheat plants, it increases the resistance against Rusts.

BIBLIOGRAFIA.

Agulhon H., *Présence et utilité du bore chez les végétaux.* « Ann. de l'Inst. Pasteur », XXIV, 321-329, 1910.

Brandenburg E., *Die Herz-und Trockenfäule der Rüben als Bormangel Erscheinung.* « Angew. Botan. », XIII, 453-456, 1931.

— *Die Herz-und Trockenfäule der Rüben als Bormengel Erscheinung.* « Phytopath. Zeitschr. », III, 499-517, 1931.

— *Die Herz-und Trockenfäule der Rüben. Ursache und Bekämpfung.* « Angew. Bot. », XIV, 194-228, 1932.

Brenchley W. E., *On the action of certain compounds of zinc, arsenic and boron on the growth of plants.* « Ann. of Bot. », XXVIII, 283-301, 1914..

— e Warington K., *The role of boron in growth of plants.* « Ann. of Bot. », XLI, 167-187, 1927.

Callison, « The Journ. of Analyt. Chem. », 1890. (Sunto in « Le Staz. Sperim. Agr. Ital. », XIX, 57-61, 1890).

Cookf C., *Boron: its adsorption and distribution in plants and its effetc on growth.* « Journ. of Agr. Res. », V, 877-890, 1916.

Cusumano A., *Studio sull'influenza del boro nelle piante.* « Staz. Sper. Agr. Ital. », LVIII, 440-448, 1925.

Haas A. R. C., *Toxic effect of boron on fruit trees.* « Bot. Gaz. », LXXXVIII, 113-131, 1929.

Haselhoff E., *Ueber die Einwirkung von Borverbindungen auf das Pflanzenwachstum.* « Die Landw. Versuchst. », LXXIX-LXXX, 399-429, 1913. (Sunto in « Centralbl. für Bakt. », (II) XL, 379, 1914.

Hoagland D. R. e Snyder W. C., *Nutrition of strawberry plant under controlled conditions:* (a) *Effects of deficiencies of boron and cer-*

tain other elements: (b) *Susceptibility to injury from sodium salts.* « Proced. Amer. Soc. Hort. Sci. », XXX, 288-294, 1934, (Sunto in « R. A. M. », XIV, 376, 1935).

Mc Montrey J. E., *The effect of boron deficiency on the growth of tobacco plants in aereated and unaereated solutions.* « Journ. Agr. Res. », XXXVIII, 371-380, 1929.

Sibilia C., *Ricerche sulle ruggini dei cereali: La specializzazione della* Puccinia triticina *Erikss. in Italia.* « Boll. R. Staz. Patol. Veg. », n. s., XV, 277-300, 1935.

Skinner J. J. e Allison F. E., *Influence of fertilizzers containing borax on the growth and fruiting of cotton.* « Journ. of Agr. Res. », XXII, 433-443, 1923.

Van Schreven D. A., *Uitwendige en inwendige symptomen van boriumgebrek bij Tabak.* « Tijdschr. over Plantenziekten. », XL, 98-112, 1934.

— *Uitwendige en inwendige symptomen van boriumgebrek bij Tomaat.* « Tijdschr. over Plantenziekten. », XLI, 1-26, 1935.

Relazione sulle esperienze di lotta diretta contro le ruggini del grano nell'anno 1935

Dopo gli incoraggianti risultati pratici ed economici conseguiti nello scorso anno 1934 nella lotta diretta contro le ruggini del grano (1), il Direttore di questa R. Stazione ha ritenuto utile proseguire ancora per qualche anno le prove, con indirizzo specialmente economico, allo scopo di poter raccogliere in questi anni dati tali che permettano di trarre conclusioni definitive sulla convenienza di questi trattamenti. È necessario infatti in prove di questo genere esperimentare in annate di forti attacchi rugginosi, di attacchi modesti ed anche in annate di infezioni insignificanti.

Le esperienze che questa R. Stazione conduce da tempo, sono solo da due anni dirette a verificare il tornaconto economico; ed in questo periodo la prima annata (1933) non dette risultati pratici perchè servì solo, come era indispensabile, ad orientare circa il modo, l'epoca, ed il numero delle solforazioni; nel secondo anno (1934) si ebbe una mediocre infezione rugginosa contro la quale il trattamento diretto delle colture con zolfo greggio si dimostrò efficace e conveniente; l'anno in corso (1935) presentò una insignificante infezione di ruggini; mancano ancora i dati ricavabili in anni di gravi infezioni.

Nel corrente 1935 sono state istituite due serie di prove: una presso Roma (Monterotondo) nella tenuta di Tor

(1) Sibilia C., *Relazione sulle esperienze di lotta diretta contro le ruggini del grano.* « Boll. R. stazione di Patologia vegetale », N. S., XIV, 3, pagg. 327-333, Firenze 1934.

Mancina dell'Istituto Zootecnico Laziale, l'altra presso Alessandria in contrada Mezzano-Orti nella tenuta condotta dai Sig.ri Fratelli Milanese, dove già si era sperimentato negli anni scorsi (1).

L'andamento della stagione nei mesi di marzo, aprile e maggio fu nettamente sfavorevole agli attacchi delle tre ruggini del grano in Alessandria, mentre si mostrava invece in maggio adatto alle infezioni della sola *Puccinia glumarum* nella campagna romana. Sopraluoghi eseguiti ad Alessandria fino al 20 maggio permettevano di stabilire che gli attacchi di tutte e tre le ruggini erano assolutamente nulli ed a Roma (Tor Mancina) erano di così lieve importanza che non destavano preoccupazioni. Devo però osservare che mentre negli anni precedenti nella seconda metà di maggio a Roma prevalevano gli attacchi di *Puccinia triticina*, quest'anno alla stessa epoca mancava quasi del tutto la *P. triticina* e prevaleva la *P. glumarum* che manifestò le prime pustole il 24 aprile cioè con circa un mese di ritardo sull'anno passato (30 marzo). L'andamento della stagione fresco ed umido fece sì che si mantennero le condizioni adatte a *P. glumarum* fino alla fine di maggio ed oltre per cui in alcune località dell'Agro Romano e in molte zone dell'Italia centrale questa ruggine dette luogo ad attacchi di una certa entità specie sui grani marzuoli.

In conseguenza delle particolari condizioni meteoriche e della scarsezza degli attacchi, il primo trattamento fu eseguito quest'anno a Roma il 1.° giugno. Tuttavia il permanere delle sfavorevoli condizioni climatiche e

(1) Desidero qui esprimere la mia riconoscenza oltre che al Prof. Maymone, Direttore dell'Istituto zootecnico, al Prof. Zannoni, direttore della Cattedra di Alessandria che ha caldamente patrocinato queste esperienze e al Dott. M. Rossi che le ha coscienziosamente seguite, anche ai Sig.ri Fratelli Milanese che con entusiasmo e precisione eseguono da tre anni le prove sui terreni da loro condotti.

la constatazione dei minimi progressi delle infezioni ruginose nel campo delle esperienze, consigliarono prima a sospendere, poi ad interrompere i trattamenti. Mancano quindi per Roma elementi di giudizio sulla convenienza delle solforazioni.

Altrimenti si svolsero le cose ad Alessandria dove, per le particolari condizioni dell'ambiente ricco di umidità e soggetto a frequenti nebbie, vi è sempre da temere un pericoloso diffondersi delle ruggini. Le solforazioni furono perciò iniziate e proseguite con lo stesso solforatore dell'anno passato e utilizzando ugualmente lo zolfo greggio della Società Bombrini, Parodi e Delfino. Il primo trattamento fu fatto il 25 maggio dopo 4 giorni di pioggia; le frequenti precipitazioni atmosferiche ostacolarono e ridussero i successivi trattamenti; infatti tra il 25 maggio e il 4 giugno, data della seconda solforazione, si ebbero quattro giorni di pioggia o di vento che resero il terreno impraticabile e i trattamenti impossibili. La terza solforazione avvenne il 10 giugno essendovi stati tra il 5 e il 10 alcuni giorni di vento. La quarta solforazione fu fatta il 17 giugno perchè il 15, giorno stabilito, fu impedita da un forte temporale con pioggia. Con questo furono sospesi i trattamenti data l'imminenza della mietitura.

In totale si effettuarono quest'anno ad Alessandria solo quattro trattamenti, contro otto dell'anno passato e si impiegò per ogni solforazione e per ogni ettaro di terreno lo stesso quantitativo di zolfo greggio. La superficie in prova che era notevolmente più grande di quella dell'anno scorso, era seminata, tanto nel controllo come nell'esperienza, metà a file trinate, metà a file binate. Nella porzione a file trine il solforatore passava agevolmente fra i gruppi trini, sull'altra porzione invece, non essendovi spazio sufficiente, furono lasciati dei sentieri larghi cm. 50 senza grano, e ciò ogni 10 metri. La varietà di grano coltivata era anche quest'anno il Damiano Chiesa.

Alla trebbiatura si constatarono i seguenti risultati dell'esperienza:

Campo di controllo:		*Campo di prova:*	
Superficie . . . . . m.²	18920	Superficie . . . . . m.²	16720
Produzione totale . . q.li	87,66	Produzione totale . . q.li	78,87
» ad ettaro. »	46,33	» ad ettaro. »	47,17
Peso specifico (media di 44 misurazioni). .	76,68	Peso specifico (media di 41 misurazioni). .	76,86

Come risulta dagli elementi qui riportati, anche quest'anno non ostante i lievissimi attacchi delle ruggini e la materiale impossibilità di fare trattamenti razionali, si è potuta constatare una benefica influenza delle solforazioni, manifestatasi sia con un aumento della produzione unitaria, sia con un aumento, seppure lievissimo, del peso specifico. Si devono tuttavia tenere presenti alcuni inconvenienti, non potuti evitare, che hanno impedito il raggiungimento di risultati più notevoli.

Innanzi tutto uno dei lati del campo di prova era ombreggiato da una fila di gelsi che, per quanto rada, ha certamente avuto l'effetto di diminuire alquanto la produzione del grano, fila che mancava nella parcella di controllo. Secondariamente il grano mietuto di ambedue le parcelle dovette, per forza di cose, rimanere sul terreno fino alla trebbiatura e di conseguenza subire danni e perdite per opera di piogge insistenti che caddero dopo la mietitura. Sebbene tanto il grano di prova come quello di controllo si trovassero nelle stesse condizioni sfavorevoli, è tuttavia logico supporre che i danni devono essere stati proporzionali al prodotto unitario e quindi deve essere stato più danneggiato il grano dell'esperienza che non quello di controllo. Ricordo che la permanenza all'aperto ha molto diminuito il peso specifico, poichè il grano di un appezzamento confinante con quello dell'esperienza, ma tempestivamente riparato dalle piogge, ha dato un peso specifico di poco superiore a 81. Ciò

lascia supporre che i due grani del controllo e della prova abbiano perduto intorno a Kg. 5 per ettolitro di peso.

Tralasciando però queste ed altre considerazioni, il conto economico dei trattamenti risulta il seguente:

Spese per 1 ettaro per 1 trattamento:

Benzina ed olio pel motore	L. 2,85
n.° 3 operai per ore 1 $^1/_2$ ciascuno, tot. ore 4 $^1/_2$ a L. 1 all'ora.	» 4,50
» 1 cavallo per ore 1 $^1/_2$ a L. 1 all'ora	» 1,50
Zolfo greggio Kg. 40 a L. 30 il quintale	» 12,00
Totale	L. 20.85
Per n.° 4 trattamenti la spesa fu quindi di	L. 83,40
Maggior resa per un ettaro di coltura trattata rispetto al controllo Q. 0,84 di grano p. sp. 76,86 al prezzo di L. 100 (1)	L. 84,00

Ne risulta quindi tra:

maggior rendimento dell'esperienza in .	L.	84,00
e spese ottenute per le solforazioni in .	»	83,40
un utile netto ad ettaro di	L.	0,60

***

Il risultato dell'esperienza di quest'anno è molto notevole, non ostante che nessun utile si sia ricavato dalle solforazioni, in quanto permette di stabilire due punti di grande interesse: 1.°) l'efficacia dei trattamenti con zolfo greggio è reale e constatabile anche negli anni in cui le infezioni rugginose sono minime come il 1935; 2.°) i trattamenti non sono di aggravio economico per gli agricoltori delle regioni umide e nebbiose nemmeno

(1) Trascuro la differenza di peso specifico non apprezzabile commercialmente e stabilisco il prezzo a L. 100 al quintale considerandolo medio tra quello di luglio e di ora.

quando gli attacchi di ruggine sono modestissimi, al contrario se fatti regolarmente, mettono in condizione di fronteggiare una improvvisa intensificazione delle infezioni permettendo di realizzare vantaggi non trascurabili.

Questi due primi anni di esperienze sono certamente incoraggianti, tuttavia solo alcuni altri anni di prove potranno permettere un giudizio definitivo, anche perchè lo scopo di queste esperienze non è tanto di constatare se anno per anno i trattamenti offrano un tornaconto economico, quanto di stabilire in linea di massima per un certo numero di anni se siano convenienti o meno.

Questo metodo delle solforazioni con zolfo greggio è l'unico fino ad ora sperimentato su vasta scala in Italia e merita di essere tenuto in considerazione, almeno fino a quando altri metodi, ottimi in proporzioni molto limitate, non diano risultati economici migliori se trasportati nella grande pratica.

Cesare Sibilia.

Influenza della concimazione potassica sopra la cicatrizzazione delle ferite nei frutti di limone

L'importanza che il potassio ha nella nutrizione normale delle varie specie di *Citrus* è dimostrata dall'analisi chimica dei costituenti delle ceneri dei vari organi delle piante di agrume. Specialmente i frutti contengono il potassio in una percentuale quattro volte maggiore di quella dell'acido fosforico e due volte maggiore di quella dell'azoto.

I frutti di limone su 100 parti in peso contengono 0,058 di acido fosforico, 0,253 di potassio e 0,151 di azoto (1).

Il potassio ha un'influenza sensibile sopra lo sviluppo di alcuni tessuti e indirettamente quindi anche sulla maggiore o minore resistenza dei vari organi all'azione di cause nocive esterne. Quando grandi quantità di potassa vengono somministrate a piante di *Citrus* la buccia dei frutti resta assai più sottile del normale, con un aumento del grado di conservabilità (2). Anche il legno delle piante abbondantemente concimate con potassa è molto più duro e compatto del legno delle piante fornite di scarse quantità di sale potassico. Gioelli (3) ha trovato che i frutti di arancio (var. *Sanguinella moscato*), raccolti sulle piante concimate esclusivamente con solfato potassico, hanno presentato una maggiore resistenza al marciume prodotto dal *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc.

---

(1) H. Harold Hume, *The cultivation of Citrus fruits*. London, 1926.

(2) Loc. cit.

(3) Gioelli F., *Sopra una probabile azione delle concimazioni potassiche contro il marcio dei frutti degli agrumi*. « Riv. di Pat. Veget. », Anno XXII, nn. 11 e 12, 1932, pag. 189.

Che il potassio induca nelle piante proprietà particolari, fisiologiche e istologiche, per le quali la resistenza contro gli attacchi dei parassiti e contro l'azione di fattori meteorici viene notevolmente aumentata, è stato ormai dimostrato da numerose esperienze (1) che sarebbe superfluo riferire in questa mia breve nota (2).

***

Nello scorso anno (1934) ho istituito delle esperienze per constatare l'eventuale influenza della concimazione potassica sopra la formazione del sughero cicatriziale in seguito a ferite nei frutti di limone.

A tale scopo ad alcune piante di limone comune, vegetanti su terreno alluvionale in provincia di Messina, venne somministrato nel gennaio del solfato potassico in ragione di 500 gr. a pianta, ripetendo la stessa somministrazione ai primi di aprile. Nel maggio furono eseguite delle lesioni superficiali mediante la punta di un piccolo bisturi sui frutti provenienti dalla fioritura dell'estate precedente (*verdelli*).

I frutti vennero poi raccolti in tre tempi successivi e cioè dopo 103, 108 e 113 giorni dalla prima concimazione.

Le sezioni, condotte trasversalmente all'asse longitudinale delle lesioni, mostravano al microscopio l'asportazione degli strati cellulari dell'epicarpio e del mesocar-

(1) Si trovano citate però nella letteratura fitopatologica alcune eccezioni le quali avrebbero però bisogno di essere controllate con ulteriori esperienze. Secondo Laurent, per es., i concimi potassici predisporrebbero le piante di cicoria e di carota all'attacco della *Sclerotinia sclerotiorum*.

(2) La letteratura relativa all'argomento si trova citata in gran parte nella rivista sintetica del Prof. Petri, *La nutrizione minerale delle piante in rapporto alla predisposizione o alla resistenza di queste a cause patogene*. « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », Anno X, 1930, pag. 121.

Si veda anche la Rivista illustrata dei Sindacati tedeschi del Potassio « Die Ernährung der Pflanze », di cui sono stati pubblicati 31 volumi.

pio nella sua regione periferica. In particolare sono stati sempre asportati gli strati a cellule piccole sottoepidermiche che misurano nel diametro maggiore 18-33 μ, mentre le cellule più profonde, le quali pure nelle lesioni più gravi sono state asportate e lesionate, misurano anche 110 μ nella loro lunghezza.

Nei frutti raccolti dopo 5 giorni dalle lesioni non si notava alcuna formazione di pareti nuove suberificate e solo dopo 10 giorni erano visibili le prime divisioni di un fellogeno intorno ai margini della ferita, dopo 15 giorni la formazione di più strati di cellule a pareti suberificate era palese tutto intorno alle ferite e tanto nei frutti delle piante concimate con solfato potassico che in quelli delle piante di controllo. Numerose osservazioni comparative delle sezioni degli uni e degli altri frutti, non permisero di rilevare alcuna apprezzabile differenza nel numero degli strati del sughero, nè nella maggiore o minore rapidità di formazione delle cellule a pareti suberificate. Probabilmente il non aver trovato alcuna differenza a questo riguardo si doveva attribuire al fatto che le osservazioni erano state effettuate a distanze di tempo troppo brevi dalla data della somministrazione del solfato potassico, oppure al fatto che i frutti erano già assai sviluppati quando le piante ricevvero la concimazione potassica, ammettendo che questa ultima abbia un'influenza stimolatrice sulla formazione del sughero delle ferite.

Nel 1935 ho ripetuto quindi le stesse esperienze servendomi dei frutti formatisi sulle stesse piante che avevano ricevuto la concimazione potassica nel 1934.

Le lesioni superficiali sui frutti vennero eseguite il 29 aprile scorso e la raccolta dei frutti stessi e di quelli di controllo fu fatta il 3, il 10 e il 17 maggio.

Nelle sezioni condotte trasversalmente all'asse longitudinale delle lesioni non si osservava, al microscopio, alcuna differenza nella formazione del sughero di cicatrizzazione al 5.° giorno dopo le ferite nei frutti delle

due serie di piante. Nelle sezioni corrispondenti alla raccolta del 10 maggio si notava un numero maggiore di strati cellulari a pareti suberificate, intorno al margine delle ferite, in confronto a quanto si poteva consta-

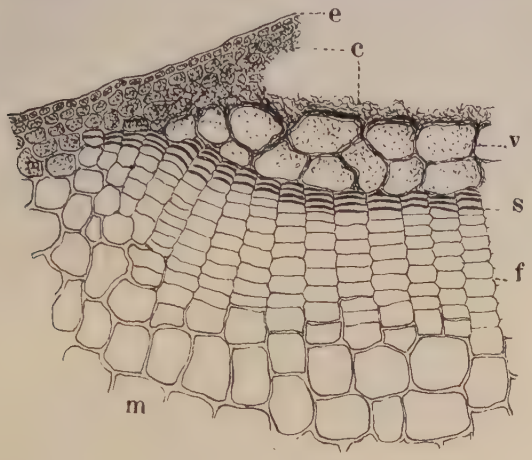


Fig. 1. — Sezione trasversale di una porzione dell'esocarpio *(e)* e del mesocarpio *(m)* di un limone in corrispondenza di una ferita superficiale. Il limone è stato prelevato da una pianta concimata con solfato potassico. *c,* cellule morte e lacerate in seguito alla ferita; *v,* cellule contigue a quelle morte e restate viventi per breve tempo, esse mostrano un'evidente ipertrofia e l'ispessimento della parete. *s,* cellule del sughero di cicatrizzazione; *f,* fellogeno.

Ingr. $\frac{320}{1}$.

tare nelle sezioni dei frutti di controllo raccolti alla stessa data. Questa differenza si fece molto più evidente nelle sezioni dei frutti raccolti il 17 maggio.

Le osservazioni da me fatte sui vari stadi del processo di cicatrizzazione mi hanno permesso di precisare i seguenti fenomeni:

Le cellule contigue a quelle lacerate dal bisturi presentano una ipertrofia più o meno marcata con tendenza ad allungarsi verso la lesione, mentre le loro pareti, specialmente quelle tangenziali rispetto alla ferita, subiscono un ispessimento e una parziale cutinizzazione.

Queste cellule hanno però una brevissima vita di 48 o 72 ore al massimo, perchè sotto di esse si formano strati più o meno numerosi di piccole cellule, a pareti suberificate, disposte regolarmente in serie radiali e che costituiscono il prodotto dell'attività di un fellogeno sottostante più o meno sviluppato. L'ipertrofia delle cellule

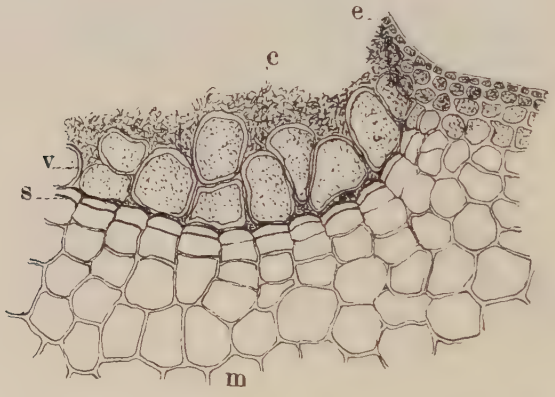


Fig. 2. — Sezione trasversale di una porzione dell'esocarpio *(e)* e del mesocarpio *(m)* di un limone in corrispondenza di una ferita superficiale. Il limone è stato prelevato da una pianta non concimata. Il fellogeno è pochissimo sviluppato. *c*, *v*, *s*, come nella fig. 1. Ingr. $\frac{320}{1}$.

contigue a quelle uccise è certamente da considerarsi come un principio di formazione del *callo delle ferite*, processo che si arresta assai presto per esaurimento del citoplasma in seguito al formarsi del sughero sottostante. Garms (1) ha osservato una simile formazione del callo nel caso di ferite di molti frutti. Vi sono dunque due sorta di cellule protettive, quelle che erano rimaste viventi a contatto delle cellule uccise dalla ferita e quelle suberificate, originatesi *ex novo* dal fellogeno più profondo. Nelle prime la cutinizzazione della parete non è com-

(1) Garms H., *Untersuchungen über Wundheilung an Früchten.* « Beihefte zur Bot. Centrbl. », Bd. LI, 1933, p. 437.

pleta e ad ispessire la parete stessa si trova anche della gomma. Questi processi di cicatrizzazione sono identici nelle due serie di frutti, la differenza determinata dalla concimazione potassica è costituita dal fatto che nei frutti delle piante concimate la formazione del fellogeno è più rapida e di maggiore entità. Questo tessuto difatti, nei frutti raccolti il 17 maggio, presenta sino a 12 strati di cellule, mentre nei frutti delle piante di controllo il fellogeno possiede solo 3 o 4 strati al massimo.

Le figure quì unite danno un'idea della differenza suddetta.

Si deve dunque dedurre dai risultati ottenuti che la concimazione potassica ha stimolato la formazione del sughero delle ferite nel mesocarpio.

Messina, Settembre 1935-XIII.

ANTONINO SINDONI.

Sopra i presunti rapporti genetici col limone e col cedro di una particolare varietà di limone assai resistente alla " Deuterophoma tracheiphila „ Petri

Sotto il nome di *Limone Interdonato* è conosciuto in varie località della Sicilia e segnatamente in provincia di Messina e di Catania, un particolare tipo di limone i cui caratteri morfologici e biologici lo distinguono assai nettamente dalle altre varietà ivi coltivate. Si ritiene da tradizionali notizie che esso sia un ibrido di *limone* × *cedro* (1), ma non si posseggono in verità delle prove tali che avvalorino un simile presupposto. Dal lato biologico è notevole il fatto che mentre il comune limone ed il cedro sono delle specie spiccatamente rifiorenti, il limone *Interdonato* sotto le ordinarie condizioni di cultura non risulta rifiorente.

Nell'interesse della fitopatologia tale limone ha richiamato fin da alcuni anni addietro la nostra attenzione (2) per la notevole resistenza che esso offre all'azione della *Deuterophoma tracheiphila* Petri. Gli studi sulla malattia (*mal secco*) determinata da tale fungo hanno fra l'altro condotto alla necessità di creare, attraverso la selezione o l'incrocio, qualche varietà di limone resistente e pienamente rispondente al tradizionale indirizzo tecnico-economico della agrumicoltura locale (3).

---

(1) « Annali della R. Stazione Sperimentale di Frutticoltura e di Agrumicoltura di Acireale », Vol. 2.° N. S., 1935, pag. 6.

(2) Ruggieri G., *Note tecniche sul mal secco degli agrumi* « Citrus ». Riv. della Cam. Agrumaria di Messina, 1931, pag. 91-95.

(3) Il limone *Interdonato*, quantunque abbia avuto in questi ultimi anni una larga diffusione fra gli agrumeti colpiti dal mal secco, tuttavia non potrà che soddisfare parzialmente le richieste del commercio essendo la sua maturazione strettamente limitata nel tempo (ottobre-novembre); anche ricorrendo alla *forzatura* esso non potrà affatto ar-

Ora, prima che si intraprendano tali lavori di genetica, dovendosi necessariamente trar profitto di qualche carattere utile del limone *Interdonato*, ho creduto opportuno esaminarne la costituzione cromosomica per stabilire se con un tale esame si potesse risolvere la questione della presunta origine ibrida di questa varietà. La ricerca è stata anche consigliata dall'aspetto *sui generis* del limone in parola, aspetto che poteva far sorgere il dubbio di essere in relazione a un aberrante complesso cromosomico.

Della determinazione del numero dei cromosomi in moltissime specie del genere *Citrus* e generi affini si sono occupati varî autori. Strasburger (1) per primo, esaminando cellule madri del polline ed apici vegetativi di *Citrus sinensis* Osbeck, *Citrus aurantium* L., *Citrus medica* L., ritenne che il numero *aploide* dei cromosomi in dette specie fosse di 8 e che molto verosimilmente il numero *diploide* fosse di 16. Osawa (2), esaminando in *Citrus nobilis* var. *unshiu* (Lour.) Swingle, ritenne parimente che il relativo numero aploide fosse probabilmente di 8 e quello diploide di 16. Più tardi Frost (3) adoperando una diversa tecnica di colorazione (metodo Belling) arrivò invece a stabilire che in due varietà di *Citrus si-*

---

rivare a fornire frutti durante tutto l'anno come invece avviene attraverso la coltivazione di alcune varietà rifiorenti. Anche l'altra varietà, la *Monachella*, che mostra di possedere una resistenza al mal secco maggiore dell'Interdonato, pur essendo una varietà rifiorente e produttrice di *verdelli*, ha tuttavia il difetto di produrre pochissimi limoni a maturazione autunno-invernale (Cfr. Sindoni A., *Osservazioni sopra il grado di resistenza di alcune varietà di limone al mal secco.* Giornale « Agricoltura Messinese », 1935).

(1) Strasburger E., *Ueber die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybriden Frage.* « Jahrb. f. wissensch. Bot. », **44**, 482-555, 3 pls., 1 fig. 1907.

(2) Osawa J., *Cytological and experimental studies in Citrus.* « Imp. Univ. Tokyo. Coll. Agr. Journ. », **4**, 83-116, 5 pls., 1 fig., 1912.

(3) Frost H. B., *The chromosomes of citrus.* « Jour. Wash. Acad. Sci. », **15**, p. 1.

nensis Osbeck ed in una di *Citrus maxima* (Burm) Merril, il numero aploide è di 9. Agli stessi risultati pervenne anche Longley (1), estendendo l'indagine a 24 forme di *Citrus* e specie affini, compreso anche il *Citrus limonium* Risso; solamente in *Fortunella hindsii* (Champ.) Swingle, trovò che il numero aploide è di 18. Cosicchè risulta ormai ammesso che nei *Citrus* l'ordinario numero aploide è di 9. Solo saltuariamente sono stati riscontrati dei *Citrus* tetraploidi (2) ed è stato infine trovato un *Citrus* triploide (3) proveniente dall'incrocio della *Fortunella hindsii* precedentemente accennata con un ibrido di *Fortunella margarita* × *Citrus aurantifolia*.

Per la ricerca da me compiuta, il materiale da studio, consistente in piccoli boccioli fiorali, è stato raccolto nella primavera di quest'anno presso la Stazione di Agrumicoltura di Acireale, fissato in liquido di Flemming (miscela osmio-cromoacetica), imparaffinato, sezionato al microtomo, quindi colorato con allume ferrico + ematossilina e poi con safranina.

Portando il mio esame su numerose cellule madri del polline in via di divisione, attraverso difficoltà non lievi derivanti dalla estrema piccolezza con cui apparivano i cromosomi anche sotto i più forti ingrandimenti, e dalla non infrequente presenza di corpuscoli rassomiglianti qualche volta ai cromosomi, ho potuto tuttavia constatare che il contenuto cromosomico del limone *Interdonato* non ha nulla di aberrante rispetto a quello degli ordinari *Citrus* studiati da Frost e Longley (4). In diverse metafasi eterotipiche ed in qualche metafasi omotipica ho potuto riscontrare dei distinti gruppi di cromosomi costituiti da 9 elementi.

---

(1) Longley A. E., *Polycary, polyspory and polyploidy in citrus and citrus relatives*. « Jour. Wash. Acad. Sci », **15**, 347-351, 6 figs.

(2) Frost H. B., *Tetraploidy in Citrus*. « Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. », **11**, 535-537, illus. 1925.

(3) Longley A. E., *Triploid Citrus*. « Jour. Wash. Acad. Sci. », **16**, 543-545, 4 figs.

(4) V. nota 3 a pag. precedente e nota 1 di questa pag.

È mia intenzione di ricorrere allo studio della discendenza del limone *Interdonato*, ottenuta per autogamia (1), per stabilire se questa varietà sia da considerarsi come un ibrido, non avendo potuto risolvere la questione con l'esame del numero dei cromosomi. È pure mia intenzione d'ibridare il limone *Interdonato* con la varietà *Monachella* per ottenerne forme nuove che potrebbero presentare un interesse pratico per la loro eventuale resistenza al *mal secco*.

R. Stazione di Patologia vegetale
Roma, Ottobre 1935-XIII.

GAETANO RUGGIERI.

RECENSIONI

LEIF VERNER - *A physiological study of cracking in Stayman Winesap Apples.* « Journ. Agr. Res. », Vol. 51, 1935, n. 3, pag. 191.

Il cosidetto « mal dello spacco » che è assai comune in molti frutti, come aranci, pomidoro, pesche, albicocche, è stato oggetto di recenti ricerche da parte di Leif Verner in un frutteto sperimentale a Kearneysville, W. Va. È noto che lo spaccarsi dei tessuti periferici del pericarpio dei frutti carnosi è determinato dal rigonfiarsi eccessivo del tessuto sottostante all'epicarpio per cui la pressione, a cui questo è sottoposto, viene a superare il limite di estensibilità dell'epicarpio stesso il quale si spacca. Per spiegare il fenomeno sono state prese in considerazione alcune cause, come l'aumento eccezionale del contenuto di acqua del terreno che provocherebbe un accumulo di acqua nella polpa del frutto specialmente se la pioggia sia stata preceduta da un lungo periodo di siccità.

L'A. a questo riguardo, ha fatto oggetto di numerose esperienze le mele del frutteto suddetto che sono soggette al mal dello spacco ed ha potuto stabilire che il fenomeno è indipendente dalla fluttuazione del contenuto di acqua del suolo, piuttosto da numerose osservazioni è risultato che lo spacco si veri-

(1) Benchè nell'impollinazione dei *Citrus* sia dominante la dicogamia, tuttavia non viene esclusa l'autogamia. (Cfr. PENZIG O., *Studi botanici sugli agrumi e sulle piante affini.* Minist. dell'Agricol., Roma, 1887, pag. 65.

ficava sempre in corrispondenza di periodi di estremamente bassa traspirazione. Naturalmente la scarsa perdita di acqua coincideva in generale col tempo piovoso, ma in alcuni casi lo spacco si manifestava in corrispondenza di un minimo di bassa traspirazione e quando non vi era stata caduta di pioggia da anche 6 giorni, d'altra parte nessuno spacco era constatato dopo forti pioggie quando il periodo di bassa traspirazione era di breve durata. Da determinazioni eseguite con un atmometro è risultato che la durata del periodo di depressa traspirazione deve essere di almeno 6 ore perchè lo spacco si verifichi.

L'A. ammette che durante un simile periodo la fornitura idrica al frutto non si modifichi per cui si verificherebbe un accumulo di acqua col conseguente rigonfiamento dei tessuti. A questa iperidria del frutto concorrerebbe anche l'assorbimento di acqua che direttamente il frutto stesso e le foglie potrebbero effettuare attraverso l'epidermide durante la caduta della pioggia.

L'A. non ha trovato alcuna prova a favore della supposizione che una pressione vascolare elevata sia da considerarsi come una causa dello spacco. Anche dei tentativi per produrre artificialmente il fenomeno sottoponendo ad elevate pressioni la linfa contenuta nei vasi del legno di rami portanti frutti hanno dato resultati negativi.

L'A. ha trovato che sommergendo nell'acqua un ramo con frutti per parecchi giorni, le mele mostravano grossi spacchi, ciò che conferma la possibilità da parte dei frutti di assorbire acqua durante la caduta della pioggia e quindi l'esperienza dimostra quale parte la pioggia prenda nel determinare il fenomeno.

Giacchè non tutte le mele di un ramo si spaccano quando le condizioni esterne sono favorevoli al verificarsi dello spacco, si deve ammettere che la suscettibilità dei frutti verso queste cause esterne varia da frutto a frutto. Fra le condizioni interne dei frutti che possono predisporre allo spacco l'A. ha trovato che si devono comprendere tutte quelle anormalità dei tessuti periferici, come screpolature, ustioni, dovute o alla *Venturia* o ai raggi solari, o al vento, o alle irrorazioni anticrittogamiche e insetticide. I tessuti sottostanti a queste alterazioni posseggono il più elevato valore osmotico, ciò che favorisce il loro rigonfiarsi sotto l'azione dell'acqua che attraverso le aree alterate è più facilmente assorbita. Altro fattore interno dei frutti che favorisce il verificarsi dello spacco è il più rapido ritmo d'ingrossamento dei frutti stessi.

Prof. Lionello Petri, *Direttore responsabile*